



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104130930 A

(43) 申请公布日 2014. 11. 05

(21) 申请号 201410186662. 2

(22) 申请日 2014. 05. 05

(30) 优先权数据

13/875, 555 2013. 05. 02 US

(71) 申请人 加拿大血液服务中心

地址 加拿大安大略

(72) 发明人 马克·D·斯科特

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

代理人 余刚 张英

(51) Int. Cl.

C12M 1/00(2006. 01)

C12N 5/00(2006. 01)

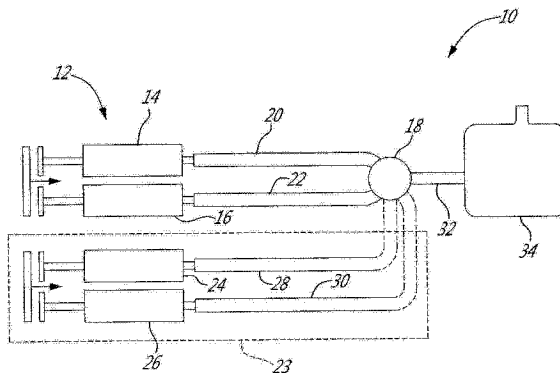
权利要求书2页 说明书5页 附图5页

(54) 发明名称

生物细胞免疫伪装的装置和方法

(57) 摘要

本发明涉及生物细胞免疫伪装的装置和方法,其中,一种用于生物细胞的聚合物改性的装置和方法包括从第一贮存池泵送包含生物细胞的第一液体混合物至混合室和从第二贮存池泵送含有活化的聚合物的第二液体混合物至同一混合室,使用至少一个泵独立地控制泵入混合室中的第一液体混合物和第二液体混合物的输出体积,在混合室中混合第一液体混合物和第二液体混合物而产生包含聚合物改性的生物细胞的最终混合物,和从所述混合室向输出贮存池排出包含聚合物改性的生物细胞的最终混合物。



1. 一种将聚合物接枝于生物细胞以免疫伪装所述生物细胞的装置,包括:
含有生物细胞的第一液体混合物的第一贮存池;
含活化的聚合物的第二液体混合物的第二贮存池;
至少一个泵,其与所述第一贮存池和所述第二贮存池都流体流连通,并且所述泵从所述第一贮存池和所述第二贮存池将所述第一液体混合物和所述第二液体混合物分别传送到共同混合室,所述泵可以操作以独立地控制从第一贮存池和所述第二贮存池的每一个进料到所述混合室的所述第一液体混合物和所述第二液体混合物的每一种的输出体积;
所述混合室与所述至少一个泵流体流连通并在其中接收所述第一液体混合物和所述第二液体混合物的所述输出体积,所述输出体积按照预定的体积比在所述混合室中混合从而产生含有聚合物改性的生物细胞的最终混合物;和
出口,用于从所述混合室将所述聚合物改性的生物细胞的最终混合物排出。
2. 根据权利要求 1 所述的装置,其中所述活化的聚合物的第二液体包含以下至少一种:甲氧基聚乙二醇 (mPEG)、超支化的聚甘油、和聚噁唑啉。
3. 根据权利要求 1 所述的装置,其中所述至少一个泵包括具有限定所述第一贮存池并泵送所述生物细胞的第一液体混合物的至少一个第一注射器和限定所述第二贮存池并泵送所述活化的聚合物的第二液体混合物的至少一个第二注射器的注射泵。
4. 根据权利要求 3 所述的装置,其中所述注射泵被自动操作以用于往复操作。
5. 根据权利要求 3 所述的装置,其中限定所述第一贮存池和所述第二贮存池的所述第一注射器和所述第二注射器分别含有基本相等体积的所述第一液体混合物和所述第二液体混合物,从而泵送相同体积比的两种液体混合物。
6. 根据权利要求 3 所述的装置,其中限定所述第一贮存池的所述注射器包含相比于限定所述第二贮存池的所述注射器中所含的所述第二液体混合物的体积基本上不相等体积的所述第一液体混合物,从而所述第一注射器和所述第二注射器泵送不同体积比的所述第一液体混合物和所述第二液体混合物进入所述混合室。
7. 根据权利要求 3 所述的装置,其中所述注射泵包含两个以上的注射器。
8. 根据权利要求 1 所述的装置,其中所述至少一个泵包含可操作以控制所述第一贮存池和所述第二贮存池的输出体积的至少一个蠕动泵,所述至少一个蠕动泵串联在所述第一贮存池和所述第二贮存池与所述混合室之间。
9. 根据权利要求 8 所述的装置,进一步包含与所述第一贮存池和所述混合室流体连通的第一管和与所述第二贮存池和所述混合室流体连通的第二管,所述第一管和所述第二管的每一个延伸通过所述至少一个蠕动泵,并从第一贮存池和所述第二贮存池基本上不间断地延伸至所述混合室。
10. 根据权利要求 8 所述的装置,进一步包含具有与所述第一贮存池和所述蠕动泵流体连通的第一管和与所述蠕动泵和所述混合室流体连通的第二管的第一组管,和具有与所述第二贮存池和所述蠕动泵流体连通的第一管和与所述蠕动泵和所述混合室流体连通的第二管的第二组管。
11. 根据权利要求 8 所述的装置,其中所述至少一个泵包含同时控制来自所述第一贮存池和所述第二贮存池的输出体积的单个蠕动泵。
12. 根据权利要求 8 所述的装置,其中所述至少一个泵包括两个蠕动泵,每个分别独立

地控制来自所述第一贮存池和所述第二贮存池的输出体积。

13. 根据权利要求 10 所述的装置,其中所述第一组管和所述第二组管的横截面面积是相同的,从而向所述混合室提供基本相同体积的所述第一液体混合物和所述第二液体混合物。

14. 根据权利要求 10 所述的装置,其中所述第一组管和所述第二组管的横截面面积是不同的,从而向所述混合室提供基本不等体积的所述第一混合物和所述第二混合物。

15. 根据权利要求 12 所述的装置,其中所述两个蠕动泵按照不同的速度被致动从而向所述混合室提供基本不等体积的所述第一液体混合物和所述第二液体混合物。

16. 一种生产聚合物改性的生物细胞的方法,包括以下步骤:

从第一贮存池向混合室泵送含生物细胞的第一液体混合物,和从第二贮存池向所述混合室泵送含有活化的聚合物的第二液体混合物;

独立地控制泵入到所述混合室的所述第一液体混合物和所述第二液体混合物的预定输出体积;

在所述混合室中混合所述预定输出体积的所述第一液体混合物和所述第二液体混合物从而产生含聚合物改性的生物细胞的最终混合物比;和

从所述混合室向输出贮存池排出包含所述聚合物改性的生物细胞的最终混合物。

17. 根据权利要求 16 所述的方法,进一步包括提供所述活化的聚合物的第二液体混合物,所述活化的聚合物包含以下至少一种:甲氧基聚乙二醇 (mPEG)、超支化聚甘油和聚噁唑啉。

18. 根据权利要求 16 所述的方法,其中独立地控制所述第一液体混合物和所述第二液体混合物的输出体积的步骤进一步包括使用具有限定所述第一贮存池的至少一个第一注射器和限定所述第二贮存池的至少一个第二注射器的至少一个远程致动注射泵。

19. 根据权利要求 16 所述的方法,其中独立地控制所述第一液体混合物和所述第二液体混合物的输出体积的步骤进一步包括使用至少一个远程致动蠕动泵。

20. 根据权利要求 16 所述的方法,其中独立地控制的步骤进一步包括自动地远程致动和控制所述泵。

生物细胞免疫伪装的装置和方法

技术领域

[0001] 本发明总体上涉及生物细胞的聚合物修饰的装置和方法,并且更具体地涉及生物细胞的免疫伪装。

背景技术

[0002] 聚合物如甲氧基聚乙二醇 (mPEG)、超支化聚甘油 (HPG) 和聚噁唑啉 (polyoxasoline) (POZ) 因其无毒特性而众所周知。在免疫学领域中,这些聚合物类型当共价接枝于细胞表面上时尤其适用于改善生物相容性和降低细胞的免疫识别。

[0003] 将聚合物接枝至生物细胞的最常见技术涉及在缓冲液中手动混合生物细胞溶液和活化的聚合物,并随后搅拌所得的混合物以获得聚合物改性的细胞。这种手动(即,非自动化的)混合方法,除了相对缓慢,耗时和不合适规模放大以处理更大体积之外,通常会导致活化的聚合物水解速率较高,聚合物改性的细胞产物均匀性较差,所述混合物的无菌性控制较低。

[0004] 因此,将聚合物接枝于生物细胞仍然需要改进的装置和方法。

发明内容

[0005] 根据本发明的一个方面,提供了用于将聚合物接枝于生物细胞以免疫伪装所述生物细胞的装置,包括:包含生物细胞的第一液体混合物的第一贮存池;包含活化的聚合物的第二液体混合物的第二贮存池;至少一个泵,其与所述第一贮存池和第二贮存池流体流连通并分别从第一贮存池和第二贮存池将所述第一液体和第二液体混合物传送到共同混合室,所述泵可操作以独立地控制从第一贮存池和第二贮存池的每一个向所述混合室中进料的所述第一液体混合物和第二液体混合物的每一种的输出体积;所述混合室与所述至少一个泵流体流连通并在其中接收所述第一液体混合物和第二液体混合物的输出体积,所述输出体积在所述混合室中按照预定的体积比混合从而产生含聚合物改性生物细胞的最终混合物;和出口,其用于从所述混合室排出所述聚合物改性生物细胞的最终混合物。

[0006] 根据本发明的另一个方面,还提供了用于制备聚合物改性的生物细胞的方法,包括以下步骤:从第一贮存池向混合室泵送含生物细胞的第一液体混合物,以及从第二贮存池向所述混合室泵送含活化的聚合物的第二液体混合物;独立控制泵入所述混合室的第一液体混合物和第二液体混合物的预定输出体积;在所述混合室中混合第一液体混合物和第二液体混合物的预定输出体积从而产生含聚合物改性生物细胞的最终混合物比率;以及从所述混合室将包含所述聚合物改性生物细胞的最终混合物排放到输出贮存池中。

附图说明

[0007] 结合所附的附图,通过下面的详细描述进一步的特征和优点将变得显而易见,其中:

[0008] 图 1 是根据本发明一个实施方式的装置的示意图,其包含一个注射泵;

[0009] 图 2 是根据本发明另一个实施方式的装置的示意图,其包含用于致动第一贮存池和第二贮存池的输出流的至少一个蠕动泵;

[0010] 图 3 是根据本发明的另一个实施方式的装置的示意图,其包含多个蠕动泵,其各自独立地控制不同混合物的流量;

[0011] 图 4 是说明根据本发明的一个实施方式用于聚乙二醇化生物细胞的方法的步骤的流程图;和

[0012] 图 5 是示意图,显示了生物细胞和聚合物的均匀性可能范围和采用本发明装置的可能的所述受控的较窄的所希望的接枝范围。

具体实施方式

[0013] 本发明总体上涉及用于将聚合物接枝于生物细胞从而产生具有共价接枝聚合物的生物细胞(即“聚合物接枝的”或“聚合物改性的”细胞)的装置和方法,这是称为生物细胞免疫伪装的方法。所述将聚合物接枝于生物细胞的方法要求生物细胞溶液与活化的聚合物进行混合,从而随后获得聚合物改性的细胞。结合本发明的设备和方法使用的活化的聚合物可以包括,但不限于,甲氧基聚乙二醇(mPEG),超支化聚甘油和/或聚噁唑啉。这些活化的聚合物具有化学连接基团,并且可以包括许多不同的活化化学物。连接基分子可以包括,除其他之外,氰尿酸氯,咪唑甲酸酯,琥珀酰亚胺琥珀酸酯,琥珀酰亚胺碳酸酯,琥珀酰亚胺戊二酸酯,N-羟基琥珀酰亚胺,4-硝基苯酚和 2,4,5-三氯酚。上面列出的连接基分子只是示例性的。能够共价连接至聚合物的任何连接基分子都可以类似地使用。

[0014] 用于本发明生物细胞免疫伪装的设备和系统通常包括包含生物细胞的第一液体混合物的第一贮存池和包含一种或多种活化的聚合物(例如,举例为:甲氧基乙二醇(MPEG),超支化聚甘油或聚噁唑啉)的第二液体混合物的第二贮存池。所述第一液体贮存池和第二液体贮存池以可以具有可变的且可控的输出的泵的形式与至少一种流体输送装置流体连通。所述泵分别从所述第一贮存池和第二贮存池将所述第一混合物和第二混合物输送到共同混合室。所述流体输送设备/泵独立控制第一贮存池和第二贮存池的每一个的至少一个流动特性,包括输出体积,质量流量,流速等。所述泵从而控制,例如,所述混合室中接收的所述第一液体混合物和第二液体混合物的体积,以使这些混合物按照预定的体积比进行混合。通过按照预定的体积比混合第一液体混合物和第二液体混合物,获得聚合物改性生物细胞更均匀且可重复的最终混合物。还可以提供出口,用于从所述混合室排出包含所述聚合物改性生物细胞的最终混合物。

[0015] 参照图 1,根据本发明一个实施方式用于通过聚合物接枝来免疫伪装生物细胞的装置 10(即,用于聚合物接枝至生物细胞的装置)包括作为流体传送装置的注射泵 12,其设置于通过所述注射泵 12 进料的所述共同混合室 18 的上游,正如所要见的那样。所述注射泵 12 包括限定包含生物细胞的第一液体混合物的第一贮存池的至少一个第一注射器 14 和限定包含活化的聚合物(其可以包括,例如,甲氧基聚乙二醇(mPEG),超支化聚甘油(HPG),或聚噁唑啉)的第二液体混合物的第二贮存池的至少一个第二注射器 16。如图 1 中所示,所述注射器 14、16 每一个分别通过管 20、22 流体连通地连接于混合室 18。虽然未描绘,所述注射器 14、16 也可以直接流体连通地连接于所述混合室 18,从而避免使用中间管 20、22。所述注射器 14、16 允许独立控制由其输出的第一液体混合物和第二液体混合物的每一种

的输出体积,并因此会接收和混合于所述混合室 18 内。

[0016] 根据一个实施方式,生物细胞与微混合于所述混合室 18 中的活化的聚合物之比通过由所述注射器 14、16 以固定浓度泵送的第一液体混合物和第二液体混合物的体积进行控制。

[0017] 所述注射器 14、16 因此可以配置成泵送基本相等体积的第一液体混合物和第二液体混合物。例如,60mL 注射器能够用于每个注射器 14、16。可替代地,也可以使用不同尺寸的注射器,但每个将填充基本相等体积的第一液体混合物和第二液体混合物。

[0018] 在另一实施方式中,所述第一液体混合物和第二液体混合物的输出体积可以是不同的并且能够通过使用不同注射器体积或在相同尺寸的注射器中不同体积的液体混合物进行控制。

[0019] 可替代地还有,如图 1 所示,生物细胞与微混合于所述混合室 18 中的活化的聚合物之比可以通过增加例如可以包括另外的注射器 24 和 26 的额外可选泵组件 23 而改变。每个额外注射器 24、26 都,例如,经由管 28、30 与所述同一混合室 18 流体连通。每个额外的注射器 24、26 能够泵送所述生物细胞第一液体混合物,所述活化的聚合物的第二液体混合物(相比于由注射器 16 提供的那些相同或不同的组合物,并可以具有,例如,不同的聚合物分子量和/或不同的聚合物种类,如通过使用 mPEG 和 HPG 进行细胞改性而举例说明)或其他溶质,以改变在所述混合室 18 内混合的生物细胞和活化的聚合物的体积比。其他溶质的实例包括,但不限于,等渗盐水,可变 pH 的磷酸盐缓冲盐水溶液;或其他等渗缓冲液。因此,在所述装置 10 的这种特定配置中,所述注射泵 12 可以包括 4 个注射器,然而,能够使用大于或等于 2 的任何数量注射器。

[0020] 已知当化学活化的聚合物的溶液以大体积制备时,会观察到所述活化化学的较高水解速率,这会导致所述聚合物失活,并因此,降低生物细胞的时间依赖性共价接枝从而导致聚合物接枝的生物细胞均匀性变差。图 1 所示的实施方式允许对所述活化的聚合物的水解速率进行控制,因为所述活化的聚合物是按照小批量制备的。

[0021] 所述装置 10 进一步包括出口导管 32,其与所述混合室 18 流体连通用于将含聚合物改性的生物细胞的最终混合物从所述混合室 18 排出。如图 1 所示,所述出口可以与用于储存所述聚合物接枝的生物细胞的最终贮存池 34 流体连通。

[0022] 现在参照图 2 的替代实施方式,所述通过聚合物接枝用于生物细胞免疫伪装的装置 110(即,将聚合物接枝于生物细胞的装置)包括泵或流体输送装置 111,其在本实施方式中包括与向所述混合室 118 进料的所述溶液输入管线 120 和 122 串联流动的至少一个蠕动泵,并更具体而言,居中位于所述上游第一贮存池和第二贮存池 114、116 和所述下游共同混合室 118 之间。在所描绘的实施方式中,实际上提供了两个蠕动泵 112、113,其每一个都与所述第一贮存池和第二贮存池 114、116 和所述混合室 118 流体连通。所述蠕动泵 112、113 独立地控制从所述第一贮存池和第二贮存池 114、116 至所述混合室 118 的所述第一液体混合物和第二液体混合物的输出体积。虽然本文中并没有示出,但所述流体输送装置 111 还可以包括单个蠕动泵,用于同时控制从所述第一贮存池和第二贮存池 114、116 至所述共同混合室 118 的输出体积。按照如上所述构成所述流体输送装置 12 的所述注射泵的所述注射器 14、16,所述流体输送装置 111 的所述蠕动泵 112、113 可操作以至少分别控制所述第一液体混合物和第二液体混合物(即,生物细胞的溶液和活化的聚合物的溶液)的体积,使

得这些混合物按照预定的体积比进行混合。因此,由此获得聚合物改性生物细胞更均匀且可再现的最终混合物。

[0023] 尽管可以直接将蠕动泵 112、113 连接至所述第一贮存池和第二贮存池 114、116, 在所述装置 110 的所描述实施方式中, 第一管 120 与所述第一贮存池 114 和所述混合室 118 流体连通, 而所述第二管 122 与所述第二贮存池 116 和混合室 118 流体连通, 其中所述第一蠕动泵 112 与所述第一管 120 串联, 且所述第二蠕动泵 113 与所述第二管 130 串联。在替代的实施方式中, 只要所述蠕动泵 112 和 113 串联地设置于每个贮存池 114、116 和所述共同混合室 118 之间, 可以使用其他管线和 / 或管道的配置。

[0024] 图 2 通过聚合物接枝进行生物细胞免疫伪装的装置 110 是基本连续流装置, 条件是所述泵 112、113 可操作以分别从第一贮存池和第二贮存池 114、116 连续抽出溶液, 用于泵送到所述共同混合室 118 中。所述第一贮存池和第二贮存池 114、116 分别具有对接端口 124 和 126, 使得能够将所述第一液体混合物和第二液体混合物连续再填充到所述第一贮存池和第二贮存池 114、116 中。这可以使用外部贮存池 128、130 和 140 来完成。虽然所述装置 110 不可以包括这种附加外部贮存池 128、130 和 140, 在一个具体实施方式中提供它们是为了进一步使所述系统连续运行。更具体而言, 正如图 2 中所见, 经由端口 124 进料所述第一贮存池 114 的缓冲液贮存池 128 和细胞贮存池 130, 和经由所述部分 126 进料所述第二贮存池 116 的聚合物贮存池 140。所述缓冲液贮存池 128, 例如, 在一个具体实施方式中, 可以包含具有 pH 为约 8 的红细胞稀释缓冲液, 而所述细胞贮存池 130 可以包括包含 1 个单位血液的红细胞袋。所述聚合物贮存池 140 可以包含通过所述端口 126 向所述第二贮存池 116 进料的活化的聚合物溶液。在另一替代实施方式中, 所述对第二贮存池 116 进料的聚合物贮存池 140 可以包含以无水粉末形式混合所述聚合物的缓冲溶液, 从而产生所述活化的聚合物溶液。所述聚合物粉末可以包含于单独的外部贮存池, 或可以混入外部缓冲液贮存池 140 中。

[0025] 在所述装置 110 的一个可能实施方式中, 提供了一个或多个附加蠕动泵将所述溶液进料到所述第一贮存池和第二贮存池 114、116 中。例如, 将这些串联提供于所述外部贮存池 128 和 130 和所述第一贮存池 114 之间 (两个外部贮存池进料都用单个蠕动泵, 或每个外部贮存池一个), 和 / 或所述外部贮存池 140 和所述第二贮存池之间。所述装置 110 基本上连续运行, 并且具有所述额外优点是混合物无菌性几乎没有干扰, 并提供均匀的聚乙二醇化的生物细胞混合物。

[0026] 为了控制所述混合室 118 内微混合的所述第一液体混合物和第二液体混合物的比率, 所述第一管道 120 和所述第二管道 122 的横截面积, 按照所需, 可以是相同的或不同的。当管道 120 和 122 的横截面面积相同时, 假定所述第一和第二蠕动泵 112、113 按照同一速率运行, 则会相应地泵入基本相等体积的所述第一和所述第二液体混合物, 并混合于所述混合室 118 内。在给定的相同的条件下, 当管道 120 和 122 的横截面面积不同时, 基本不等体积的所述第一液体混合物和第二液体混合物进料并混合于所述混合室 118 内。

[0027] 当提供两个蠕动泵 112、113 从而分别独立控制来自所述第一贮存池和第二贮存池 114、116 的所述输出体积时, 所述第一液体混合物和第二液体混合物的体积比也可以是不同的并且进行变化, 因此通过以不同额定速度并且由此以不同输出流量致动所述蠕动泵 112、113 来进行控制。

[0028] 所述装置 110 的所述混合室 118 进一步包括与所述混合室 118 和下游的最终贮存池 134 都流体连通的出口导管 132, 用于从所述混合室 118 中排出包含聚合物改性的生物细胞的最终溶液混合物。

[0029] 现在参见图 3, 控制所述最终混合物的均匀性和连续产生所述最终混合物的替代方式是预混合缓冲液的溶液和聚合物改性的生物细胞的液体混合物, 如所示。所述装置 210 包括包含缓冲液的第三贮存池 212 和包含生物细胞的第四贮存池 214。所述第三和第四贮存池 212、214 通过管道 218、220 独立地与至少一个额外的蠕动泵 216 流体连通。所述附加的蠕动泵 216 控制所述缓冲液和生物细胞贮存池 212、214 向预备混合室 222 进料的输出流量, 从而产生来自所述预备混合室 222 的输出, 所述预备混合室 22 中是含生物细胞的稀释液体混合物。所述预备混合室 222 的输出流依次由下游蠕动泵 112 按照类似于以上关于图 2 实施方式描述的方式进行控制。

[0030] 参照图 4, 本发明还包括通过聚合物接枝, 即, 用于生产聚合物改性的生物细胞, 来进行生物细胞免疫伪装的方法 310。所述方法包括从第一贮存池向混合室泵送含生物细胞的第一液体混合物和从第二贮存池向所述同一混合室泵送含活化的聚合物(举例为: 甲氧基聚乙二醇 (mPEG), 超支化聚甘油, 或聚噁唑啉)的第二液体混合物的第一步骤 312。随后将第一液体混合物和第二液体混合物的输出体积泵入所述混合室, 使用至少一个远程致动流体输送装置 314 进行独立控制。所述方法进一步包括将所述第一液体混合物和第二液体混合物在所述混合室中混合而产生含聚合物改性生物细胞的最终混合物的步骤 316。所述混合室中的这种混合可以包括仅仅通过所述溶液泵送输入驱动的被动混合, 或可以另外通过自动运行(即, 非手动)混合机制辅助的主动混合。在这两种任一种情况下, 所用的流体输送装置可以进行控制并远程致动, 而使其自动和连续运行。所述最后的方法步骤 318 包括将所述含聚合物改性生物细胞的最终混合物从所述混合室排出到输出贮存池中。

[0031] 目前描述的装置能够控制和维持生物细胞(如例如红血细胞)和所述聚合物(如例如 mPEG)在最适合聚合物接枝的所希望的较窄带内的所述比率/混合的均匀性。正如图 5 中所见, 示意性描述了生物细胞和所述聚合物的均匀性的可能范围, 且采用本发明的装置可以制造的所述较窄的所希望的接枝范围显示于聚合物与生物细胞混合配比的这个范围内。本发明的装置使得聚合物改性细胞溶液的生产方法具有所希望接枝范围内的基本恒定的比率。

[0032] 本文中所述的聚合物改性细胞可以包括, 但不限于, 红血细胞, 血小板, 白血细胞, 或细胞或细胞聚集体, 如胰岛等的任何悬浮液。

[0033] 上述本发明的实施方式旨在是示例性的。因此, 本领域技术人员将会理解到, 前面的描述仅是举例说明性的, 并且可以设计出各种替代和修改而不脱离本发明的精神。因此, 本发明旨在涵盖落入所附权利要求范围内的所有这样的替代, 修改和变化。

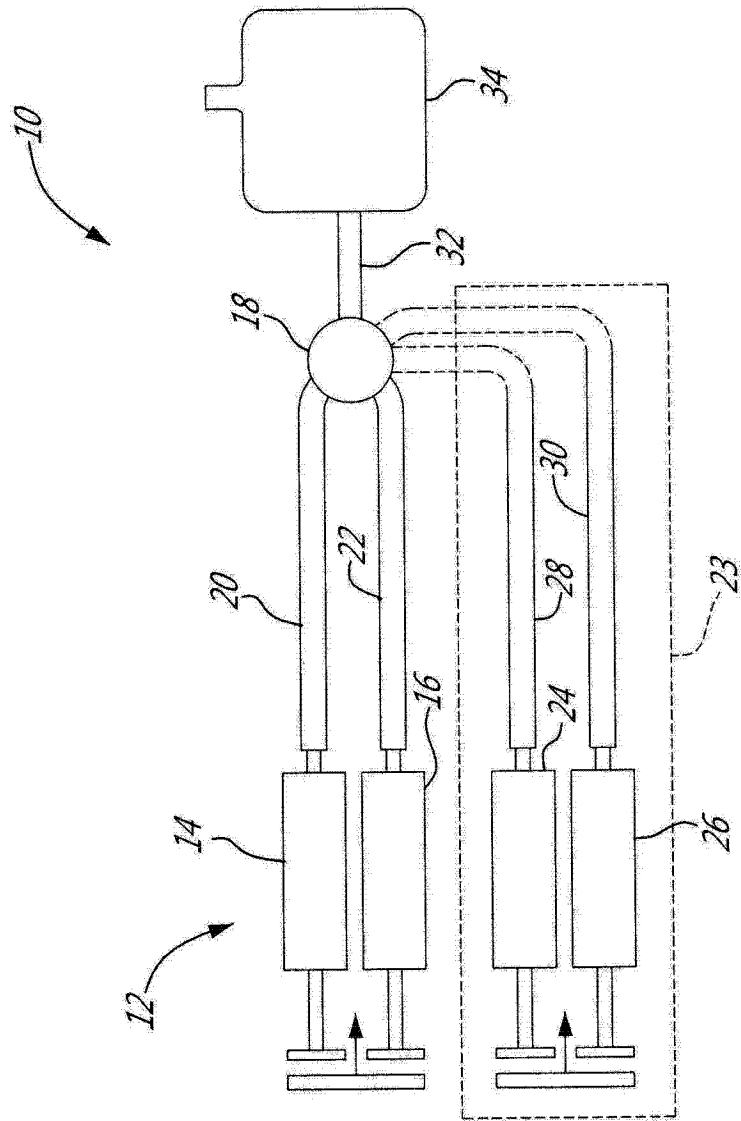


图 1

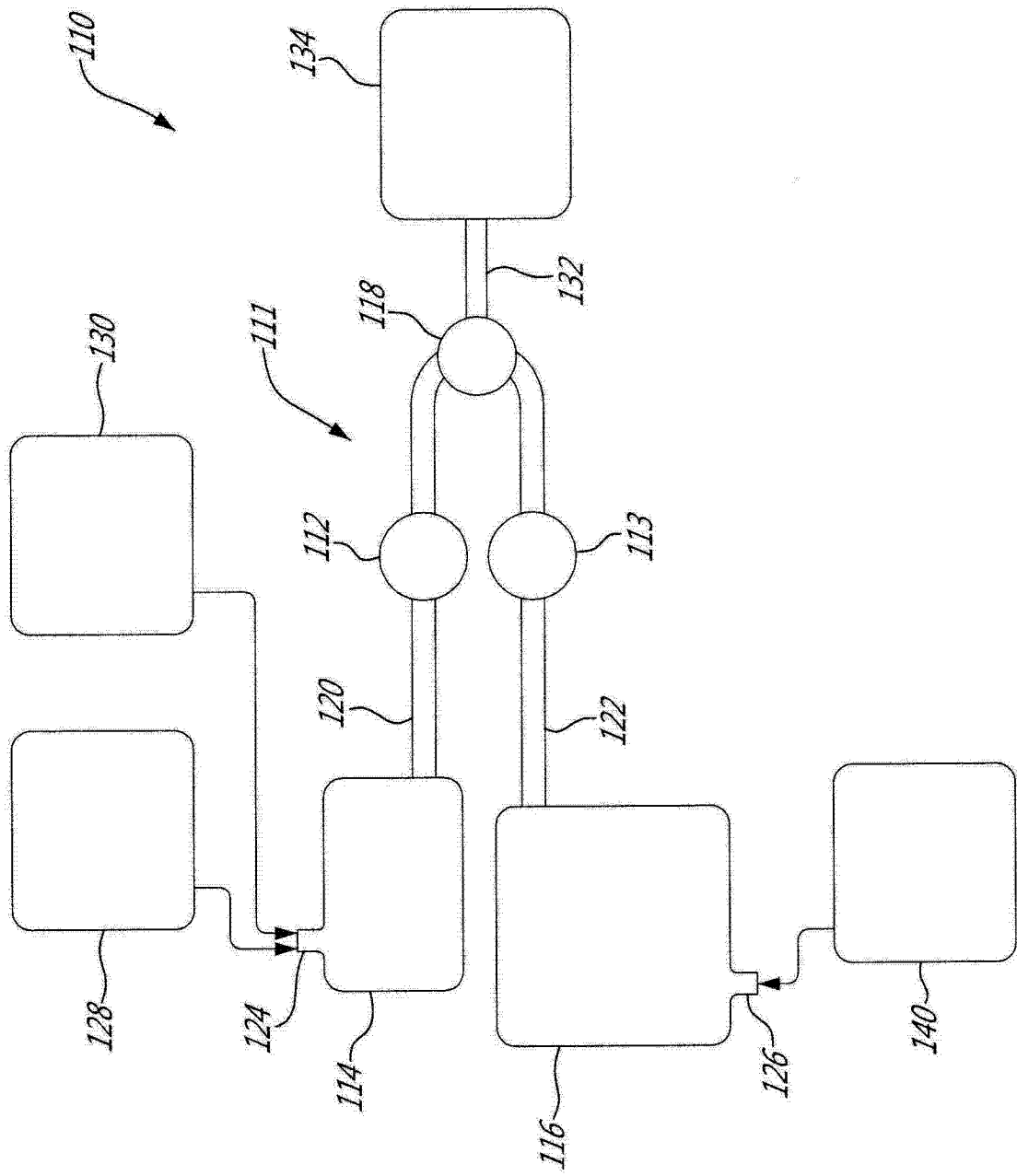


图 2

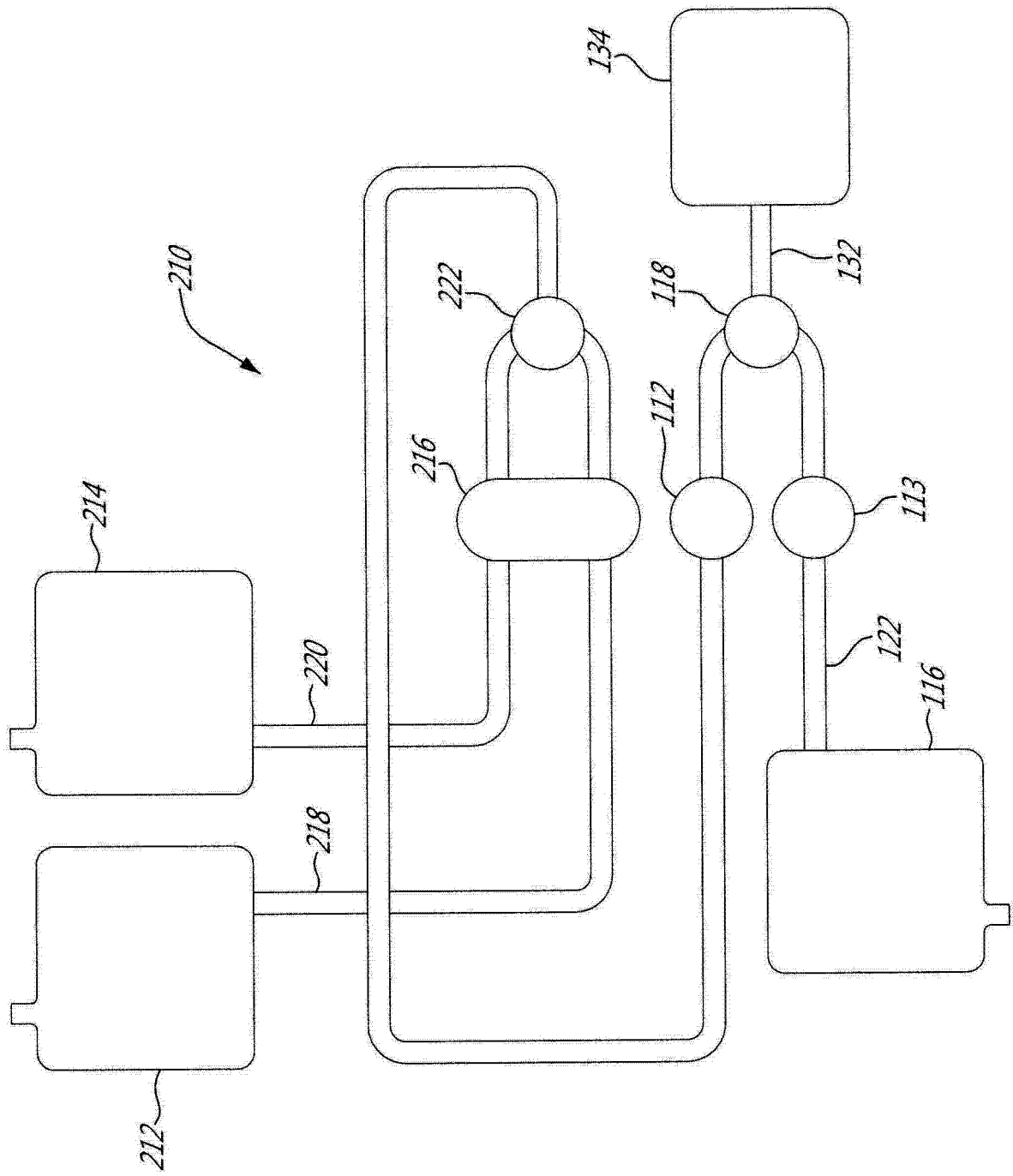


图 3

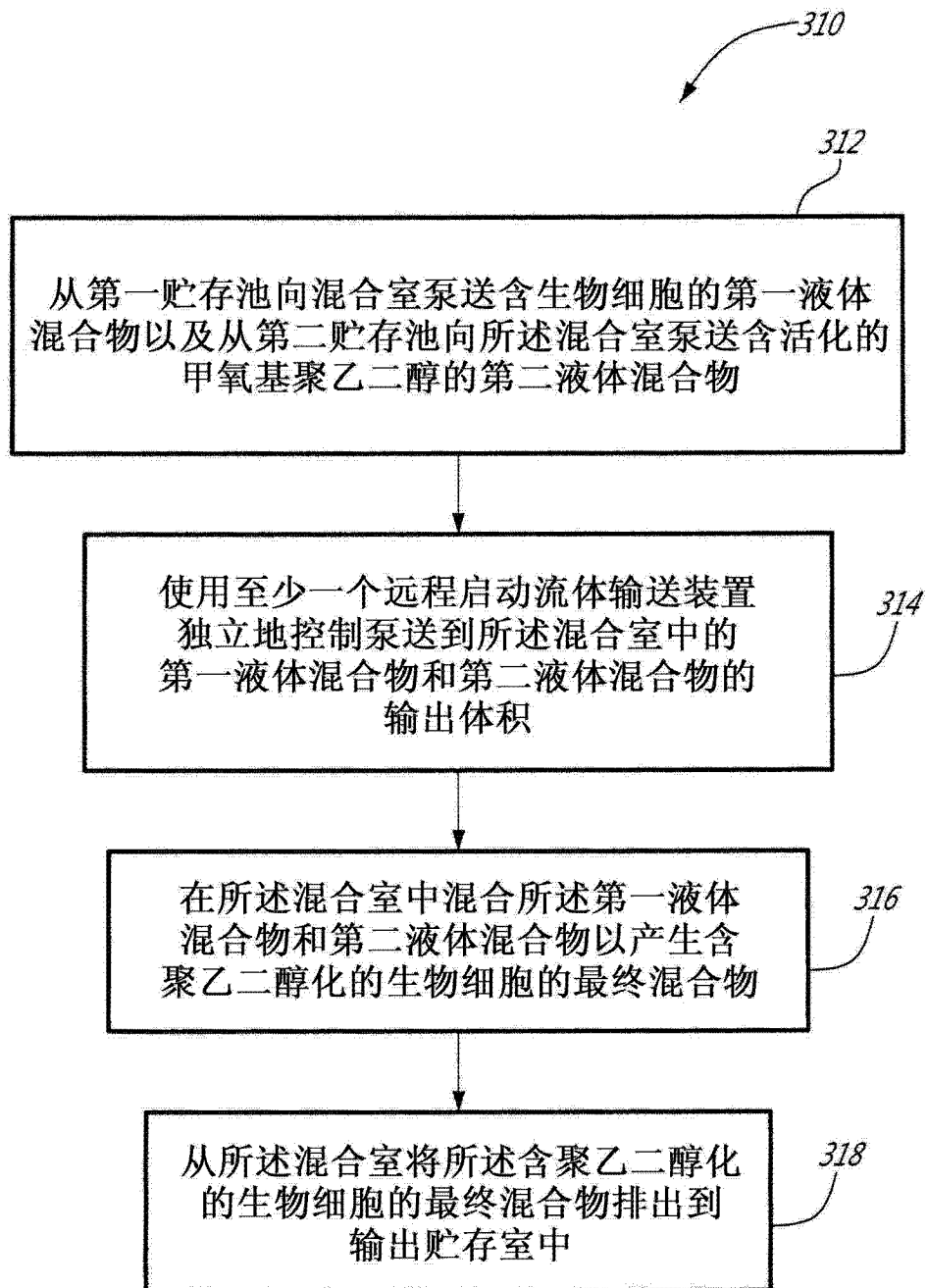


图 4

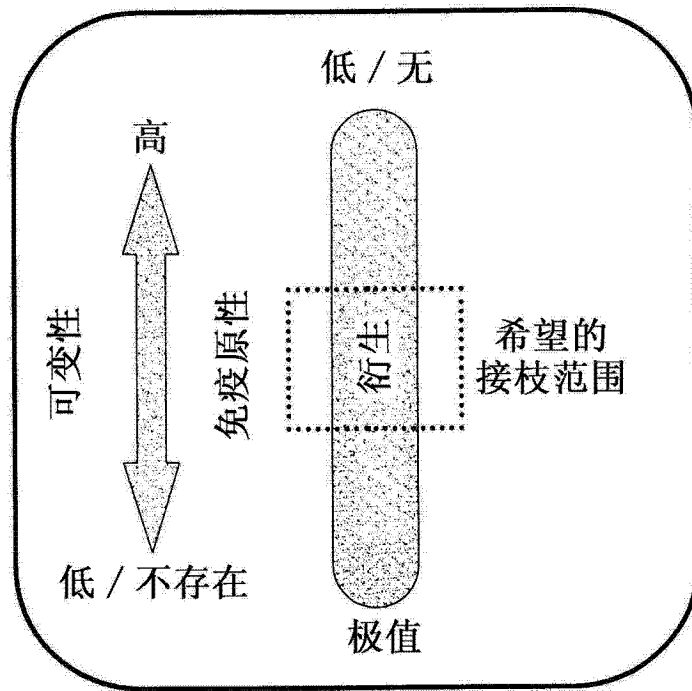


图 5