



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104640973 A

(43) 申请公布日 2015. 05. 20

(21) 申请号 201380050422. 3

地址 瑞典乌普萨拉

(22) 申请日 2013. 09. 25

(72) 发明人 K. 格鲍尔

(30) 优先权数据

1251091-3 2012. 09. 27 SE

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 03. 26

代理人 严志军 肖日松

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/SE2013/051110 2013. 09. 25

(51) Int. Cl.

C12M 3/06(2006. 01)

F16K 15/00(2006. 01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/051503 EN 2014. 04. 03

(71) 申请人 通用电气健康护理生物科学股份公司

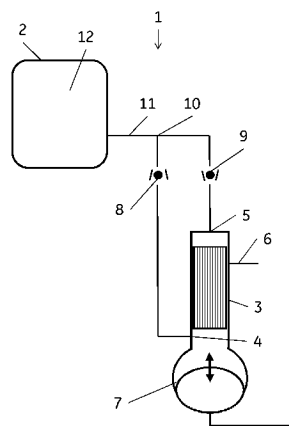
权利要求书3页 说明书7页 附图4页

(54) 发明名称

切向流动灌注系统

(57) 摘要

本发明公开了一种用于细胞的灌注培养的系统,其包括:生物反应器;过滤器单元,其带有滞留物入口端部、滞留物出口端部、和渗透物出口端口;往复泵,其流体地连接至滞留物入口端部,其中,滞留物入口端部经由入口止回阀流体地连接至生物反应器,入口止回阀布置为允许在从生物反应器至滞留物入口端部的方向上的流并且阻碍在相反方向上的流,并且其中,滞留物出口端部经由出口止回阀流体地连接至生物反应器,出口止回阀布置为允许在从滞留物出口端部至生物反应器的方向上的流并且阻碍在相反方向上的流;并且其中,入口和出口止回阀各自流体地连接至管道分支点,其经由管道段进一步连接至生物反应器。在备选实施例中,所述入口和出口止回阀中的各个经由不同的管道段流体地连接至生物反应器。本发明还公开了一种用于细胞的灌注培养的预杀菌系统,其包括:生物反应器;往复泵和过滤器单元,该过滤器单元流体地连接至往复泵并且经由至少一个无菌连接件流体地连接至生物反应器。



1. 一种用于细胞的灌注培养的系统 (1;31;51), 其包括:

a) 至少一个生物反应器 (2;32;52);

b) 至少一个过滤器单元 (3), 其包括滞留物入口端部 (4;34;54)、滞留物出口端部 (5)、和至少一个渗透物出口端口 (6;36;56);

c) 至少一个往复泵 (7;37;57), 其流体地连接至所述滞留物入口端部, 其中, 所述滞留物入口端部经由入口止回阀 (8;38;58) 流体地连接至所述生物反应器, 所述入口止回阀 (8;38;58) 布置为允许在从所述生物反应器至所述滞留物入口端部的方向上的流并且阻碍在相反方向上的流, 并且其中, 所述滞留物出口端部经由出口止回阀 (9;39;59) 流体地连接至所述生物反应器, 所述出口止回阀 (9;39;59) 布置为允许在从所述滞留物出口端部至所述生物反应器的方向上的流并且阻碍在相反方向上的流; 并且

其中, 所述入口和出口止回阀各自流体地连接至管道分支点 (10;40;60), 所述管道分支点 (10;40;60) 进一步经由管道段 (11;41;61) 连接至所述生物反应器。

2. 根据权利要求 1 所述的系统, 其特征在于, 所述往复泵是膜片泵, 例如流体驱动的膜片泵。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的系统, 其特征在于, 所述管道段 (11;41;61) 具有低于或等于所述往复泵的冲程体积的 50%, 例如, 低于或等于 25% 或 10% 的内部体积。

4. 根据任一前述权利要求所述的系统, 其特征在于, 还包括在所述入口止回阀 (8;38;58) 与所述分支点 (10;40;60) 之间的入口控制阀 (42;63)。

5. 根据任一前述权利要求所述的系统, 其特征在于, 还包括在所述出口止回阀 (9;39;59) 与所述分支点 (10;40;60) 之间的出口控制阀 (43;64)。

6. 根据任一前述权利要求所述的系统, 其特征在于, 还包括入口压力变换器 (44) 且可选地包括出口压力变换器 (45), 所述入口压力变换器 (44) 布置为在所述滞留物入口端部处测量压力, 所述出口压力变换器 (45) 布置为在所述滞留物出口端部处测量压力。

7. 根据任一前述权利要求所述的系统, 其特征在于, 所述往复泵 (37) 是流体驱动的膜片泵, 并且所述系统包括驱动流体压力变换器 (46), 所述驱动流体压力变换器 (46) 布置为测量所述往复泵 (37) 中的驱动流体压力。

8. 根据权利要求 4-6 中的任一项所述的系统, 其特征在于, 还包括至少一个控制单元 (47), 所述至少一个控制单元 (47) 布置为根据从所述入口 (44) 和出口 (45) 压力变换器中的至少一个接收的压力数据, 控制所述往复泵 (37) 和所述入口 (42) 和所述出口 (43) 控制阀中的至少一个。

9. 根据权利要求 8 所述的系统, 其特征在于, 所述 (多个) 控制单元布置为根据从所述入口压力变换器接收的压力数据, 控制所述入口控制阀和所述往复泵中的至少一个。

10. 根据任一前述权利要求所述的系统, 其特征在于, 还包括可选地连接至至少一个控制单元 (47) 的渗透泵 (50) 和渗透压力变换器 (49)。

11. 根据任一前述权利要求所述的系统, 其特征在于, 所述过滤器单元包括微过滤或超过滤膜。

12. 根据任一前述权利要求所述的系统, 其特征在于, 所述过滤器单元是中空纤维筒或平板盒。

13. 根据任一前述权利要求所述的系统, 其特征在于, 所述生物反应器包括放置在可移

动支撑件上的可膨胀的柔性袋,并且其中,所述管道段(11;41;61)是柔性的管道段。

14. 一种用于细胞的灌注培养的方法,包括下列步骤:

a) 提供根据任一前述权利要求的系统(1;31;51);

b) 将细胞培养介质和细胞添加至所述生物反应器(2;32;52);

c) 在搅拌下在所述生物反应器中培养细胞;

d) 在培养期间,操作所述往复泵(7;37;57),以:i) 经由所述管道段(11;41;61)、所述分支点(10;40;60)和所述入口止回阀(8;38;58)从所述生物反应器向所述过滤器单元(3;33;53)的所述滞留物入口端部(4;34;54)抽吸流体,和ii)从所述过滤器单元的所述滞留物出口端部(5;35;55)经由所述出口止回阀(9;39;59)、所述分支点(10;40;60)和所述管道段(11;41;61)将流体回送至所述生物反应器(2;32;52),和;

e) 从所述渗透物出口端口(6;36;56)抽吸渗透物。

15. 根据权利要求14所述的方法,其特征在于,还包括在培养期间将至少一种流体,例如细胞培养介质,添加至所述生物反应器。

16. 根据权利要求14或15所述的方法,其特征在于,所述过滤器单元包括微过滤膜,并且其中,所述渗透物包括由细胞压出的目标物质。

17. 根据权利要求14或15所述的方法,其特征在于,所述过滤器单元包括超过滤膜,并且其中,由细胞压出的目标物质残留在所述滞留物中并且回送至所述生物反应器。

18. 根据权利要求14-17中的任一项所述的方法,其特征在于,还包括控制所述往复泵(37;57)和所述入口控制阀(42;63)中的至少一个,来保持在所述往复泵(37;57)的向外冲程期间从所述入口压力变换器(44)读出的压力在预定范围内。

19. 根据权利要求14-18中的任一项所述的方法,其特征在于,还包括:根据由所述入口(44)和出口(45)压力变换器提供的数据计算跨膜压力;和控制所述往复泵(57)和/或所述入口(42)和出口(43)控制阀中的至少一个,以将所述跨膜压力保持在预先设定的上下限之间。

20. 根据权利要求19所述的方法,其特征在于,所述跨膜压力在所述往复泵(57)的向外冲程期间保持在第一范围内,且在所述往复泵的向内冲程期间保持在第二范围内。

21. 根据权利要求14-20中的任一项所述的方法,其特征在于,还包括在向后方向上操作所述渗透泵(50),以产生所述过滤器膜的反冲洗,这可选地使用来自所述渗透压力变换器(49)的输入数据由所述控制单元(47)控制。

22. 根据权利要求14-21中的任一项所述的方法,其特征在于,还包括在使用后丢弃所有的系统构件。

23. 一种用于细胞的灌注培养的系统(1;31;51),包括:

a) 至少一个生物反应器(2;32;52);

b) 至少一个过滤器单元(3),其包括滞留物入口端部(4;34;54)、滞留物出口端部(5)、和至少一个渗透物出口端口(6;36;56);

c) 至少一个往复泵(7;37;57),其流体地连接至所述滞留物入口端部,其中,所述滞留物入口端部经由入口止回阀(8;38;58)流体地连接至所述生物反应器,所述入口止回阀(8;38;58)布置为允许在从所述生物反应器至所述滞留物入口端部的方向上的流并且阻碍在相反方向上的流,并且其中,所述滞留物出口端部经由出口止回阀(9;39;59)流体地连

接至所述生物反应器,所述出口止回阀(9;39;59)布置为允许在从所述滞留物出口端部至所述生物反应器的方向上的流并且阻碍在相反方向上的流,

其中,所述入口(8;38;58)和出口(9;39;59)止回阀中的各个经由不同的管道段流体地连接至所述生物反应器。

24. 一种用于细胞的灌注培养的杀菌系统,其包括:

- a) 至少一个生物反应器(2;32;52);
- b) 至少一个往复泵(7;37;57);
- c) 至少一个过滤器单元(3),其流体地连接至所述往复泵并且经由至少一个无菌连接件流体地连接至所述生物反应器。

25. 根据权利要求1-13和23-24中的任一项所述的系统,其特征在于,由至少两个预杀菌的模块通过一个或更多个无菌连接件装配成。

26. 根据权利要求1-13和23-25中的任一项所述的系统,其特征在于,其部分地或完全由单次使用的构件组成。

切向流动灌注系统

技术领域

[0001] 本发明涉及生物反应器系统,并且更具体地涉及用于利用往复泵的灌注培养的生物反应器系统。本发明还涉及细胞的灌注培养方法。

背景技术

[0002] 由于遗传工程和生物工艺学上的变革,近年来细胞培养已产生了相当大的利益。培养细胞来制造例如,用于治疗、研究和用于诊断的蛋白质、受体、疫苗和抗体。

[0003] 一直以来认为,灌注培养提供用于细胞培养的相对好的经济性。在该操作中,细胞保留在生物反应器中,并且产物与有毒代谢副产物一起持续地移除。将包含营养的进料持续地添加至生物反应器。灌注培养操作能够实现高细胞密度,并且更重要地,细胞可维持在高产出状态下以数周。这实现了大得多的产出并且降低了必要的生物反应器尺寸。其还是用于培养初生或其他缓慢生长的细胞的有用技术。

[0004] 在近些年期间,灌注操作已极大地发展。美国专利 No. 6,544,424 公开了一种灌注系统,其中在向外冲程期间,往复膜片泵通过中空纤维过滤器从生物反应器吸引培养液,并且在向内冲程期间,通过过滤器将液体推回至生物反应器。在向外冲程期间,产生渗透,并且在向内冲程期间,过滤器被反冲洗来减少由细胞造成的阻塞。该技术的其他发展在 WO 2012/026978 中描述,其涉及生物反应器和灌注单元对单个设备中的并入,并且在 US 2011/0111486 中描述,其中去往和来自灌注单元的流也用来提供生物反应器中的附加搅拌。但是,这些系统的过滤效率不是最佳的,并且它们还对膜的阻塞和污垢敏感。

[0005] 由此,存在对允许更好地控制过滤的灌注系统的改进设计的需求。

发明内容

[0006] 本发明的一个方面是提供具有改善的过滤控制的灌注系统。这通过在权利要求 1 中限定的系统实现。

[0007] 一个优点为可防止堵塞和污垢。其他优点为:该系统是可扩缩的,其与摇动类型的生物反应器兼容,和灌注单元可作为包含的单元容纳在一体的壳体内。

[0008] 本发明的第二方面是提供用于允许改善的过滤控制的灌注培养的方法。这通过在权利要求中限定的方法而实现。

[0009] 本发明的第三方面是提供预杀菌灌注系统。这通过在权利要求中限定的系统而实现。

[0010] 本发明的其他适当的实施例在从属权利要求中描述。

附图说明

[0011] 图 1 显示了根据本发明的灌注系统。

[0012] 图 2 显示了图 1 所示的系统的过滤器单元、泵和流体连接件的放大图。

[0013] 图 3 显示了带有控制阀、压力变换器和控制单元的根据本发明的灌注系统。

[0014] 图 4 显示了具有无菌连接件和单元壳体的根据本发明的灌注系统。

具体实施方式

[0015] 在一方面中,本发明公开了一种用于细胞的灌注培养的系统 1;31;51。

[0016] 该系统包括:

- a) 至少一个生物反应器 2;32;52;
- b) 至少一个过滤器单元 3;33;53,其具有滞留物入口端部 4;34;54、滞留物出口端部 5;35;55、和至少一个渗透物出口端口 6;36;56 和;
- c) 至少一个往复泵 7;37;57,其流体地连接至滞留物入口端部。

[0017] 滞留物入口端部经由入口止回阀 8;38;58 流体地连接至生物反应器,入口止回阀 8;38;58 布置为允许在从生物反应器至滞留物入口端部的方向上的流并且阻碍相反方向上的流。滞留物出口端部经由出口止回阀 9;39;59 流体地连接至生物反应器,出口止回阀 9;39;59 布置为允许在从滞留物出口端部至生物反应器的方向上的流并且阻碍相反方向上的流。

[0018] 此外,入口和出口止回阀各自流体地连接至管道分支点 10;40;60,管道分支点 10;40;60 也经由管道段 11;41;61(例如,柔性管道段)连接至生物反应器。适当地,管道分支点与生物反应器之间的连接是经由单个管道段的。这是方便的,因为其使在生物反应器中需要的端口的数量最小化,并且其降低了绕生物反应器的管道包裹的复杂性。后者对于移动(例如,摇动袋类型的)生物反应器是尤其重要的,其中,移动管的数量需要保持在最小值。然而备选的可能性是使入口 8;38;58 和出口 9;39;59 止回阀中的各个经由不同的管道段(未显示)流体地连接至生物反应器,而没有分支点 10;40;60。用于入口和出口的不同管道可确保有利的条件:生物反应器与装置之间的管道中的液体在单次经过中单独地被处理,而不论处理的体积(泵的向内和向外冲程中的体积之间的差异)与生物反应器和装置之间的管道中的停顿体积之间的比率如何。另一个备选方式为,将分支点定位在沿着生物反应器与装置之间的流体连接的中间位置处,因而说明了工艺和停顿体积,并且优化了性能。

[0019] 生物反应器可适当地包括容器,该容器带有内部体积 12;48;62 和定位在内部体积内侧和/或外侧的搅拌器件(未显示)。搅拌器件可例如为在内部体积内侧的叶轮,其由内部体积外侧的马达直接地或磁力地驱动。搅拌器件还可为可移动的支撑件,在其上放置该容器,其可将摇动和/或摆动运动移动传送至容器。

[0020] 过滤器单元可为适于切向流动过滤的过滤器,例如,中空纤维筒或平板盒,具有界定滞留物侧和渗透侧的多个膜。当过滤器单元是中空纤维筒时,如图 2 所示,滞留物入口端部可在中空纤维束的一个端部处邻接纤维腔 13 且与纤维腔 13 连接,并且滞留物出口端部可在中空纤维束的另一端部处邻接纤维腔 14 且与纤维腔 14 连接。在该情况下,渗透物出口端口可连接至围绕束中的中空纤维 24 的外壳侧的体积-渗透隔间 15,该体积与束的纤维腔密封隔绝。过滤器单元还可包括两个渗透物出口端口,在该情况下,有可能使渗透物沿着纤维在渗透隔间中,沿与滞留物循环方向逆流(相反)的方向穿过腔适当地循环。过滤器单元可包含在伸长(例如,圆柱形)壳体 16 中,其中,中空纤维束定位在壳体的中央部分中,并且密封件 17 将渗透隔间 15 与滞留物入口隔间 18 和滞留物出口隔间 19 分界。滞留

物入口隔间可在接头 20 处直接地连接至往复泵。

[0021] 往复泵可适当地包括往复移动部件 21, 诸如例如, 膜片、膜或活塞。往复移动部件可相对于泵室 22 (当移动部件是活塞时, 也称为缸) 前后移动, 从而在移动部件的向内冲程期间迫使流体 (例如, 培养液) 流出泵室, 并在向外冲程期间将流体 (例如, 培养液) 吸入泵室中。在各冲程期间, 往复泵的冲程体积与从泵室转移出或转移到泵室中的流体 (培养液) 体积对应。往复泵可例如为如在图 1-3 中示出的流体驱动膜片泵, 其中, 泵室 22 和填充驱动液的驱动室 23 由柔性膜片 21 分离, 该柔性膜片 21 组成往复移动部件。驱动流体可为气体, 例如, 空气或液体。当流体压力经由驱动流体供应管线 25 施加至驱动室时, 膜片在向内冲程中将液体从泵室排出, 并且当流体压力释放时, 膜片弯曲回, 并且在向外冲程中将液体吸入泵室中。泵室可例如在接头 20 处直接地连接至过滤器单元的滞留物入口隔间。备选地, 其可经由流体连接件 (未显示) 连接, 该连接件例如为管道的短节, 其具有足够大而不妨碍液体流的直径、和比往复泵的冲程体积显著小的体积 (例如, 小于冲程体积的 20%, 例如小于 10% 或小于冲程体积的 5%), 可选地为经由无菌连接件连接。

[0022] 滞留物入口端部和分支点之间, 以及滞留物出口端部与分支点的连接可例如通过管道 (例如, 柔性管道) 而实现, 其中, 入口和出口止回阀与管道成一系列或邻接分支点或入口 / 出口端部。分支点 10; 40; 60 可为例如三向管道连接件或歧管。分支点与生物反应器之间的连接可为管道段 11; 41; 61 (例如, 柔性管道) 的形式的单条管线。管道长度可通过容器壁中的端口连接至生物反应器容器的内部体积。入口和出口止回阀可为任何适当的止回阀类型, 例如, 瓣阀、球阀、裂缝盘阀等。

[0023] 在往复泵的向外冲程期间, 培养液将经由该管道段 11, 41; 61 和分支点 10; 40; 60 从生物反应器抽吸至过滤器单元 3; 33; 53 的滞留物入口端部 4; 34; 54。同时, 向外冲程在过滤器单元的滞留物侧上产生负压, 这导致一定量的渗透物反冲洗过滤器膜并因而从膜清洁堵塞的细胞和其他材料。在往复泵的向内冲程期间, 培养液被推动穿过过滤器单元的滞留物侧, 从而产生可抽吸的渗透物, 且进一步经由滞留物出口端部 5; 35; 55、分支点 10; 40; 60 和该管道段 11; 41; 61 回到生物反应器。该流动路线与之前公开的路线相比具有多个优点:

i) 在向内和向外冲程期间的个别的压力控制的可能性。在向外冲程期间, 可控制负压来避免放气和气泡形成并且优化反冲洗。在向内冲程期间, 可优化过滤器单元上的跨膜压力以使过滤器膜上方的质量运输最大化。后者在过滤器单元包括用于如在下面讨论的代谢物移除的超过滤膜时是尤其重要的, 但是它在过滤器单元包括微过滤膜时对于减少污垢和阻塞也是重要的。单独控制还允许对细胞和 / 或敏感蛋白质具有最小机械损害的灌注培养方法, 以及允许全面改善的稳定性和再现性。

[0024] ii) 单独的压力控制还为具有组合、改变和流和压力的控制的新方法提供可能性。一个实例为, 入口控制阀 (如在下面所讨论的) 可用于调节去往滞留物入口端部的流, 并且与往复泵的慢向外冲程结合地产生非常长的反冲洗循环。

[0025] iii) 由于向外冲程期间在膜上方的恒定压差, 反冲洗变得均匀且良好地受控。

[0026] iv) 系统的可扩缩性得到极大的改善, 因为膜上的压力和压差可保持恒定, 不论管道直径和长度以及生物反应器内侧的压力和由生物反应器与过滤器单元之间的竖直距离引起的水静压如何。

[0027] 在该系统中使用的构造材料可与通常使用的杀菌方法 (例如, γ 照射和 / 或高压

灭菌)适当地兼容。对于可重复使用的构件,可使用不锈钢(例如,具有至少等于 316L 的耐腐蚀性)或工程塑料(例如,聚砜、PEEK 等),而对于单次使用构件,可使用塑料(例如,聚砜、聚丙烯、聚乙烯或乙烯共聚物)。

[0028] 为了避免细胞培养的感染,在培养之前,将生物反应器和与培养液接触的所有的构件适当地杀菌。该系统或系统的部分可装配且通过高压灭菌或辐射来杀菌,或者一个或更多个构件可预杀菌且装配在杀菌系统中。为了促进装配,杀菌系统部分或构件可装备有无菌连接件,例如,ReadyMate 类型(GE Healthcare)。备选地,杀菌系统部分/构件可包含在无菌包装中或装配在杀菌清洁室中。

[0029] 在一些实施例中,该管道段 11;41;61 具有小于或等于往复泵的冲程体积的 50%(例如,小于或等于 20%或 10%)的内部体积。这具有如下优点,冲程体积的主要部分用于液体的经由过滤器单元从生物反应器和返回的运输。

[0030] 在一些实施例中,渗透物出口端口 36 连接至渗透泵 50。渗透泵可用于从过滤器单元抽吸渗透物,并且还可用于控制过滤器单元中的跨膜压力。渗透泵可例如为蠕动泵。可布置渗透泵 50 来在两个流动方向上操作,例如在从渗透物出口到贮存器或废物容器(未显示)或到进一步的处理操作(未显示)传送渗透的向前方向上,和在用于利用渗透物反冲洗过滤器膜的向后方向上。

[0031] 在某些实施例中,如图 3 和 4 所示出,系统包括在滞留物入口端部 34;54 和分支点 40;60 之间的入口控制阀 42;63。其可定位在滞留物入口端部和入口止回阀之间或在入口止回阀和分支点之间。其还可形成入口止回阀的完整部分。入口控制阀可适当地能够调整流和/或在生物反应器和滞留物入口端部之间的流体连接上的压降。

[0032] 在一些实施例中,如图 3 和 4 所示出,系统包括在滞留物出口端部 35;55 和分支点 40;60 之间的出口控制阀 43;64。其可定位在滞留物出口端部和滞留物出口止回阀之间或在滞留物出口止回阀和分支点之间。其还可形成出口止回阀的整体部分,或一个或更多个(多个)止回阀可与一个或更多个(多个)控制阀结合在整体阀块中。出口控制阀可适当地能够调整流和/或在滞留物出口端部和生物反应器之间的流体连接上的压降。入口和出口控制阀可为适于调整液体流的任何类型的阀,并且它们还可为应用在柔性管道的外侧上的夹紧装置,例如夹阀、软管关闭夹等。控制阀可为能够手动地调整的或布置成能够根据从控制单元传输的信号来调整。这种信号可为例如电气、电磁、光学或气动特性。

[0033] 在图 3 所示出的某些实施例中,系统包括布置为在滞留物入口端部处测量压力的入口压力变换器 44。该压力变换器可定位在过滤器单元 33 的滞留物入口端部处或滞留物入口端部和入口控制阀之间的任何点处。在不带有入口控制阀的实施例中,其可定位在滞留物入口端部和分支点之间的任何点处。系统还可(或备选地)包括布置为在滞留物出口端部处测量压力的出口压力变换器 45。该压力变换器可定位在过滤器单元 33 的滞留物出口端部处或滞留物出口端部和出口控制阀之间的任何点处。在不带有出口控制阀的实施例中,其可定位在滞留物出口端部和分支点之间的任何点处。压力变换器可为能够手动地读取的压力计或变换器,其布置为例如通过电气、电磁或光学器件向控制单元传输压力数据。出口压力变换器 45 还可例如用于过滤器单元和膜上的跨膜压力的分别的准确确定。

[0034] 在一些实施例中,渗透物出口端口 36 包括渗透压力变换器 49。渗透压力变换器能够测量过滤器单元的渗透侧上的压力,其可与来自入口和/或出口压力变换器的数据结

合用于计算过滤器单元上的跨膜压力。渗透压力变换器还可用于反馈回路中,以用于通过渗透泵 50 的操作或通过其他渗透压力控制器件(例如,水静压控制)控制跨膜压力。变换器 49 对于往复泵的向外冲程期间的反冲洗循环的控制也是有用的。

[0035] 在图 3 所示出的一些实施例中,往复泵 37 是流体驱动的电影片泵,并且系统包括驱动流体压力变换器 46,其布置为测量安装于例如驱动流体供应管线中的往复泵中的驱动流体压力。驱动流体压力变换器可为能够手动地读取的压力计或传感器,其布置为例如通过电气、电磁或光学器件向控制单元传输压力数据。驱动流体可为气体(例如,空气)或液体。

[0036] 在某些实施例中,往复泵 37 是气体驱动的电影片泵,并且系统包括气体压力变换器 46,其布置为测量安装于例如气体供应管线中的泵中的气体压力。气体具体而言为可空气,在这种情况下,气体(驱动流体)供应是压缩空气源。

[0037] 在一些实施例中,往复泵 7;37;57 设计为具有高柔性膜片(例如,软硅橡胶膜片)的膜片泵,因而降低了流体供应管线一侧的往复泵朝向过滤器单元 3;33;53 一侧与其滞留物入口端部 4;34;54 之间的机械能损耗。因而,过滤器单元 33 的入口侧处的压力将等于在流体供应管线 46 一侧处的压力变换器处测得的压力。因而,滞留物入口一侧处的生物反应器的流体压力,且因而过滤处理和跨膜压力可通过采用驱动流体压力变换器 46 而有效地测量和控制,该驱动流体压力变换器 46 不与生物反应器流体接触。这种设计在设计带有与生物反应器流体接触的单元使用的构件的系统时有利。其降低成本和复杂性,因为驱动流体压力变换器 46 可重复使用并且不需要杀菌。因而,还可使用不可杀菌的高性能传感器,并且如果使用可杀菌的高性能传感器,那么其不需要在杀菌后重新校准。

[0038] 在图 3 所示出的某些实施例中,系统包括至少一个控制单元 47,其布置为根据从入口和出口压力变换器中的至少一个接收的压力数据,控制往复泵和入口和出口控制阀中的至少一个。(多个)控制单元可适当地电气地、电磁地(例如,通过无线通信)、光学地(例如,经由光学纤维)或气动地连接至往复泵和入口和出口控制阀中的至少一个并且连接至入口和出口压力变换器中的至少一个。(多个)控制单元可为计算机、可编程逻辑控制器或任何相似的装置,该装置能够 a) 接收来自一个或更多个压力变换器的输入信号;b) 根据预定的方法从输入信号计算一个或更多个输出参数,并且 c) 向一个或更多个控制阀和/或泵传输作为信号/多个信号的(多个)输出参数。控制单元可为一个整体的控制单元,其布置为既控制往复泵又控制入口和/或出口控制阀,或者系统可包括主控制单元(或阀控制单元)和泵控制单元(未显示)。泵控制单元可例如布置为,通过向内和向外冲程期间的冲程频率、冲程长度和移动部件的速率中的一个或更多个控制由往复泵产生的流和压力分布。在流体驱动的电影片泵的情况下,冲程频率、冲程长度和膜片速率可例如通过驱动流体供应管线上一个或更多个阀控制。如在上面提到的,泵控制单元的特征还可并入主控制单元中、或反之亦然,(多个)控制阀还可由整体的泵控制单元控制。备选地,还可预设置或手动地调整(多个)控制阀,使得仅需要一个泵控制单元。

[0039] 控制单元还可连接至渗透泵 50 和/或渗透压力变换器 49 以用于控制跨膜压力。

[0040] 在一些实施例中,过滤器单元是中空纤维筒或平板盒。已经在上面描述了中空纤维筒,但是还有可能使用常规切向流动过滤类型的平板盒。在这种情况下,滞留物入口孔口与在滞留物入口侧上的纤维腔端部对应,滞留物出口孔口与滞留物出口侧上的腔端部对应,且渗透孔口与渗透物出口对应。

[0041] 在某些情况下,生物反应器包括放置在可移动支撑件上的可膨胀的柔性袋,且管道段 11;41;61 是柔性的管道段。本发明的系统尤其适于生物反应器,其通过移动整个生物反应器容器(即,可膨胀的柔性袋)而搅动,因为仅一个管道段需要连接至生物传感器,其保持对容器的移动连接的数量低并且降低它们的缠绕。

[0042] 在一些实施例中,系统局部地或完全由单次使用构件组成,该单次使用构件可适于例如通过 γ 照射和/或高压灭菌而杀菌,并且然后使用例如 ReadyMate (GE Healthcare) 的无菌连接件连接在一起。这种系统 51 的一个实例在图 4 中示出,其带有无菌连接件 65 和可为或可不为无菌的连接件 66。如在图 4 中所示,还有可能在外壳 67 中包含过滤器单元 53、止回阀 58、59 和控制阀 63、64、以及入口和出口压力变换器(未显示)。还有可能在相同的壳体或不同的壳体 68 中包含往复泵 57。往复泵 57 可为单次使用或可重复使用的,并且其甚至可由下列部分装配:单次使用部分,其包括泵室和膜片;和可重复使用部分,其包括驱动室和带有驱动流体压力变换器的驱动流体供应管线。往复泵的单次使用部分在这种情况下还可与过滤器单元成整体。

[0043] 尽管附图显示了往复泵 7;37;57 放置在过滤器 3;33;53 下面,其他朝向同样是可能的,例如通过将往复泵放置在过滤器单元上方。特定朝向可例如取决于空间和距离考虑,以及水静压的利用,以用于不同目的。

[0044] 在本发明的第二方面中公开了用于细胞的灌注培养的方法,其包括以下步骤:

- a) 提供如上所述的系统 1;31;51;
- b) 将细胞培养介质和细胞添加至生物反应器 2;32;52;
- c) 在搅拌下在生物反应器中培养细胞;
- d) 在培养期间,操作往复泵 7;37;57,以:
 - i) 经由管道段 11;41;61、分支点 10;40;60 和入口止回阀 8;38;58 从生物反应器向过滤器单元 3;33;53 的滞留物入口端部 4;34;54 抽吸流体,和
 - ii) 从过滤器单元的滞留物出口端部 5;35;55 经由出口止回阀 9;39;59、分支点 10;40;60 和管道段 11;41;61 将流体回送至生物反应器 2;32;52,和;
- e) 从渗透物出口端部 6;36;56 抽吸渗透物。

[0045] 在一些实施例中,方法包括,在培养期间将至少一种流体(例如细胞培养介质)添加至生物反应器。这具有以下优点:可补充经由过滤器单元移除的培养液,和可将新鲜营养物质和其他试剂供应至培养物。

[0046] 在某些实施例中,过滤器单元包括微过滤膜,且渗透物包括由细胞压出的目标物质。这允许了目标物质的持续获得,目标物质可为例如免疫球蛋白的蛋白质。

[0047] 在一些实施例中,过滤器单元包括超滤膜,并且由细胞压出的目标物质残留在滞留物中并且回送至生物反应器。这允许从细胞培养物持续移除有毒的或其他非期望的低分子量废弃产物/代谢物,而目标物质(如例如免疫球蛋白的蛋白质)可在培养结束时从培养物获得。

[0048] 在某些实施例中,方法包括控制往复泵和入口控制阀中的至少一个,来保持在往复泵的向外冲程期间从入口压力变换器读出的压力在预定范围内。控制可例如通过阀的手动调整根据压力计读数手动地,或根据从压力变换器接收的信号通过控制单元实现。该方法的优点为,由向外冲程产生的负压导致的过滤器单元的反冲洗可得到控制和优化,来获得膜的有效清洁且可选地滞留物的利用反冲洗渗透物的最小的稀释。还有可能根据更复杂

的算法控制压力,例如,在向外冲程期间产生期望的压力比时间分布。

[0049] 在一些实施例中,该方法包括:根据由入口和出口压力变换器提供的或来自入口和压力变换器和渗透压力变换器中的至少一个的数据计算跨膜压力;和控制往复泵、渗透泵、以及入口和出口控制阀中的至少一个来将跨膜压力保持在预先设定的上下限之间。这具有以下优点:可使跨过过滤器膜输送的质量最大化,并可使污垢和浓度极化最小。还有可能根据更复杂的算法控制压力,例如在向外和向内冲程二者期间产生期望的跨膜压力比时间的分布。

[0050] 在一些实施例中,方法包括往复泵的向外冲程期间将跨膜压力保持在第一范围内,和在往复泵的向内冲程期间保持在第二范围内。

[0051] 在某些实施例中,方法包括在向后方向上操作渗透泵 50,来产生过滤器膜的反冲洗。渗透泵可为反冲洗的单一来源,或渗透泵因而可在往复泵的向外冲程期间操作,以有助于反冲洗并且在反冲洗循环期间产生期望的压力/流动分布。渗透泵可根据来自例如渗透压力变换器 49 的输入数据由一个或更多个控制单元 47 控制。

[0052] 当系统由单次使用构件组成时,在使用后丢弃所有的构件是经济上可行的。在上面描述的系统尤其适用于单次使用应用,但是还有可能在单次使用模式下使用常规的交替切向流动系统。

[0053] 在本发明的第三方面中,本发明公开了一种用于细胞的灌注培养的预杀菌系统,其包括:

- a) 至少一个生物反应器 (2;32;52);
- b) 至少一个往复泵 (7;37;57);
- c) 至少一个过滤器单元, (3) 其流体地连接至往复泵并且经由至少一个无菌连接件流体地连接至生物反应器。

[0054] 通过将系统提供为封闭且包含的预杀菌系统,省略了常规交替切向流动系统的装配、清洁和杀菌,以及这些工序的相应确认。此外,在建立对已杀菌(可弃的)生物反应器的流体连接之前,通过高压灭菌或蒸汽而杀菌的常规交替切向流动系统的连接中的复杂性通过将预杀菌系统提供为可易于获得的无菌连接件而显著地降低,例如可使用 ReadyMate (GE Healthcare)。

[0055] 在一些实施例中,预杀菌系统经由一个或更多个无菌连接件由至少两个预杀菌模块装配成。比较图 4,预杀菌的单次使用的交替切向流动系统可在使用时,通过在模块之间的相应分界面处使用无菌连接件而由构建这种系统的预杀菌的单次使用的模块装配。因此,通过选择和装配过滤器尺寸和泵尺寸或其他构件以配合适于生物反应器和将作用的工序的容量和性能,可在预杀菌的单次使用的交替切向流动过滤系统的容量的尺寸确定方面实现更高的灵活性。

[0056] 本书面说明使用示例以公开本发明,包括最佳实施方式、并且还使任何本领域技术人员实践本发明,包括制造并且使用任何设备或系统并且实行任何合并的方法。本发明的可申请专利的范围由权利要求限定,并且可包括由本领域技术人员向导的其他示例。这些其他示例包括不与权利要求的字面语言不同的结构元件,或者如果这些其他示例包括与权利要求的字面语言无显著差别的等同结构元件,则这些其他示例意图在权利要求的范围内。应当注意的是,可结合来自不同的实施例和方面的元件来形成新实施例。

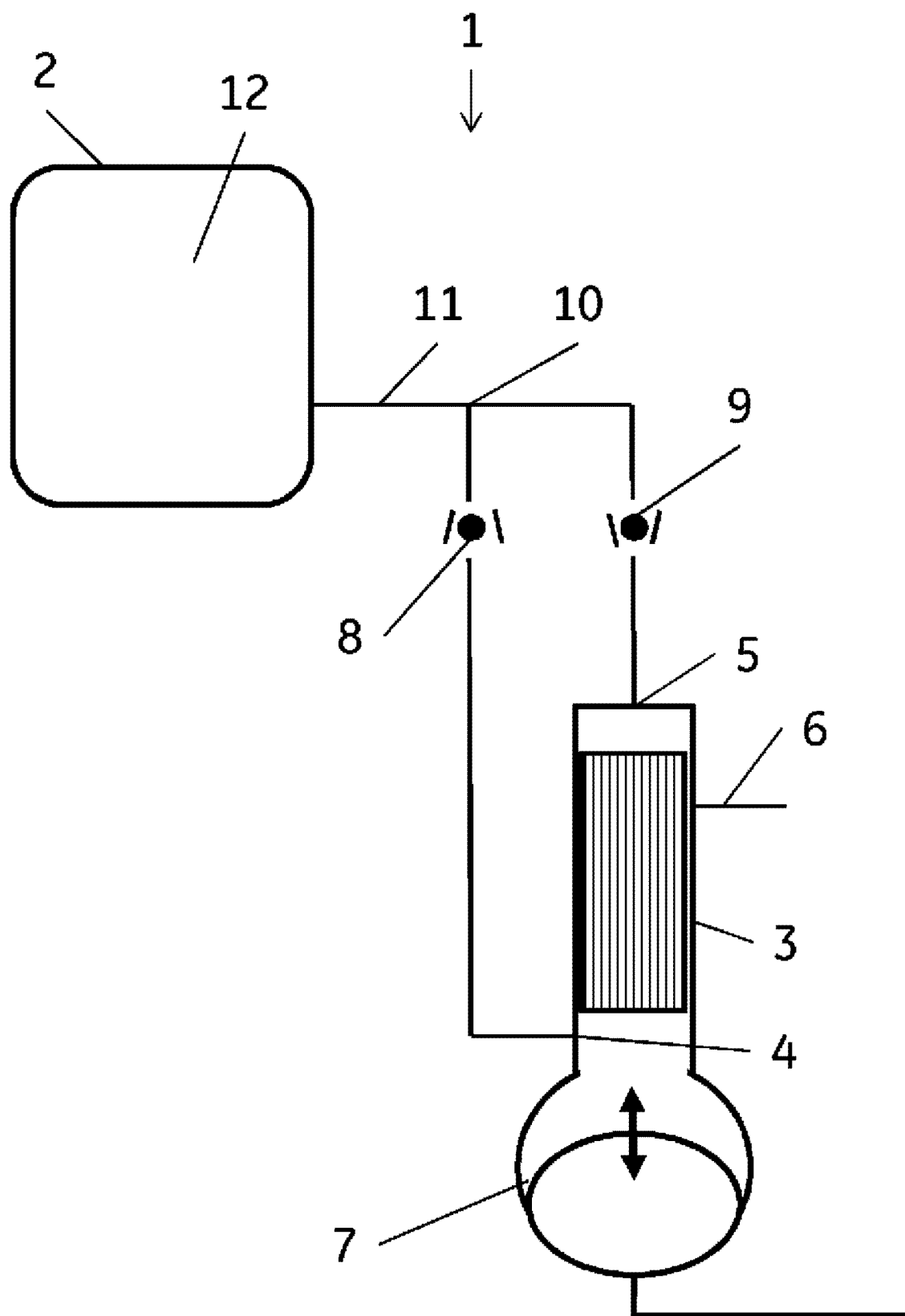


图 1

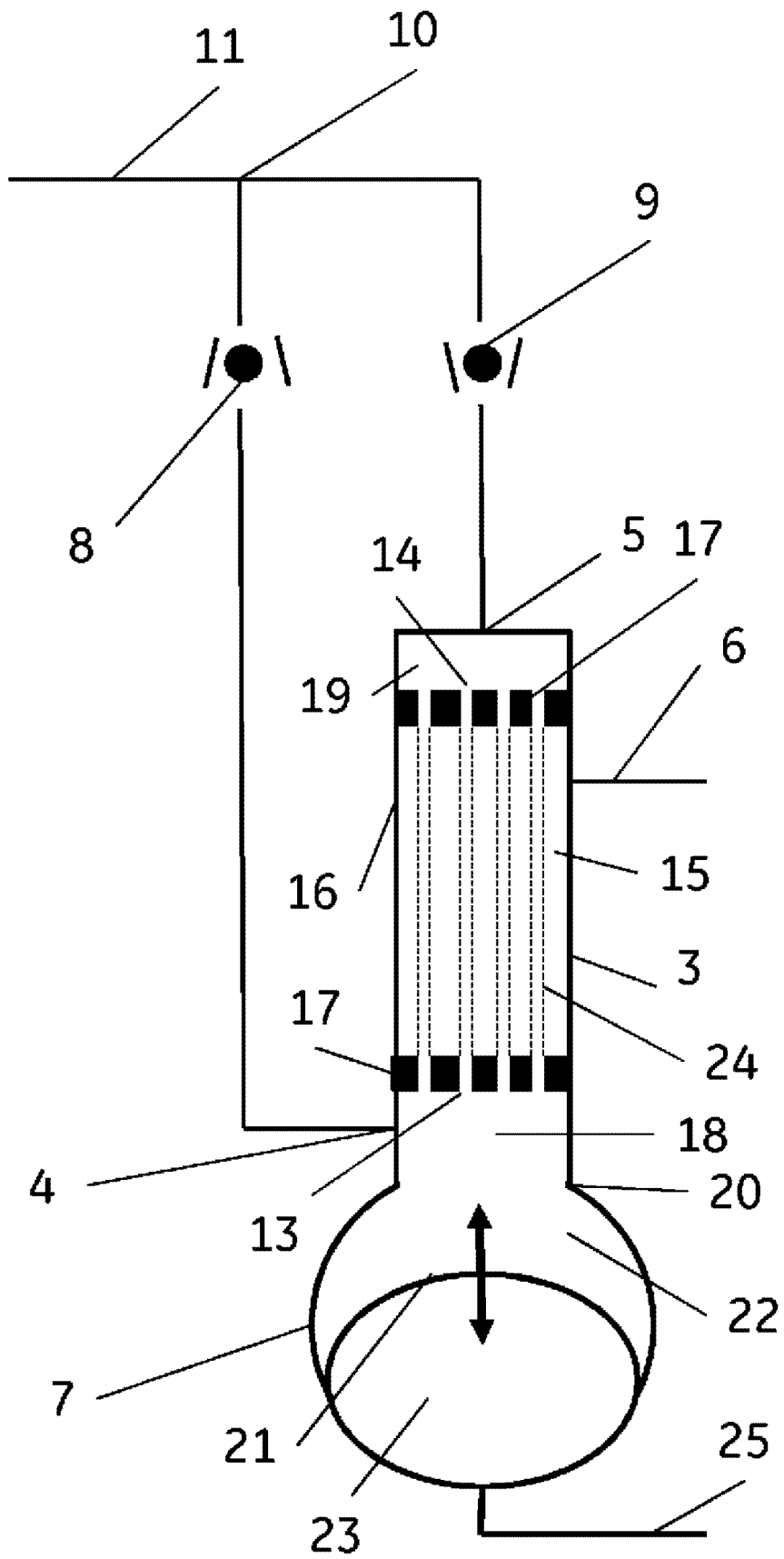


图 2

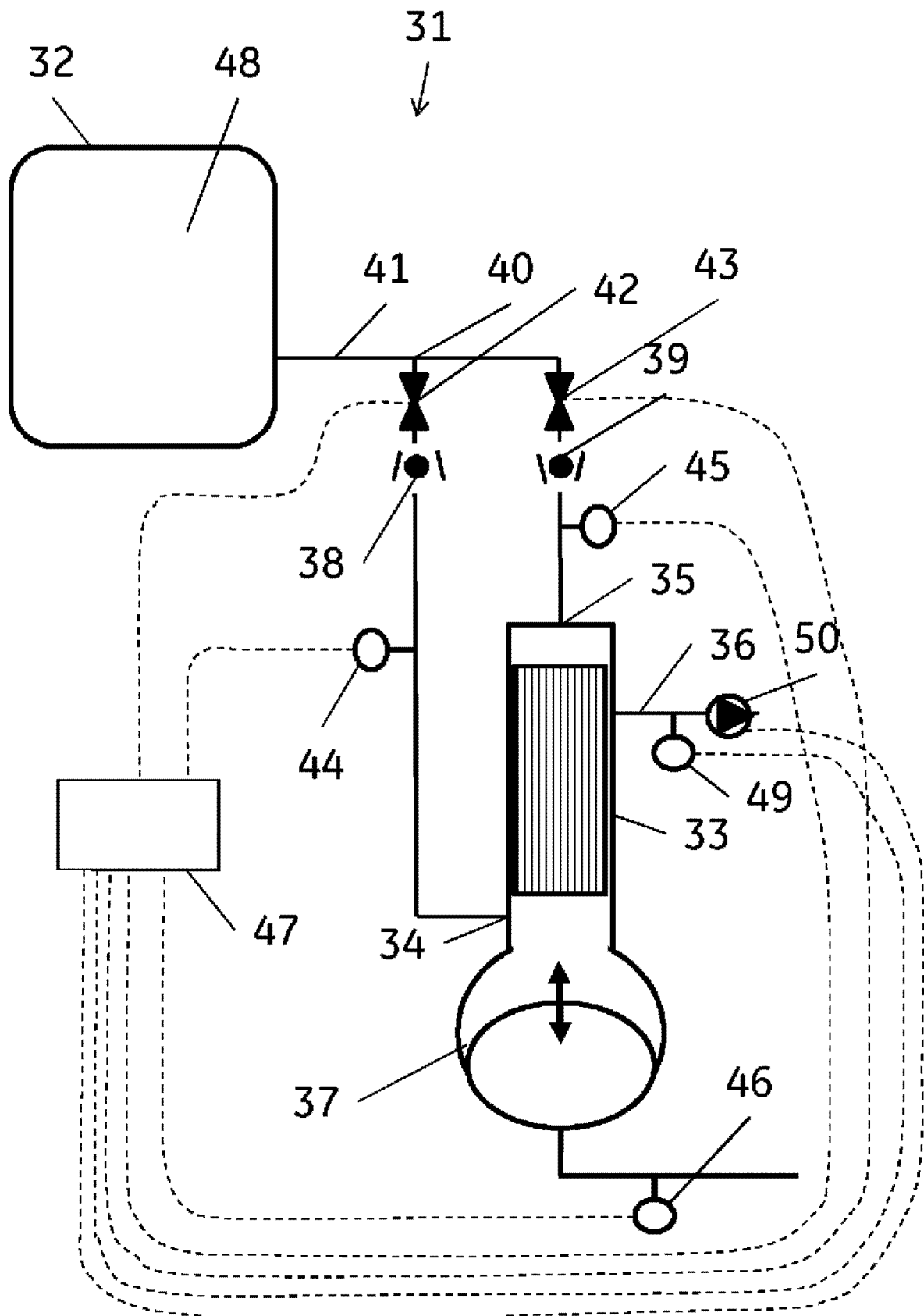


图 3

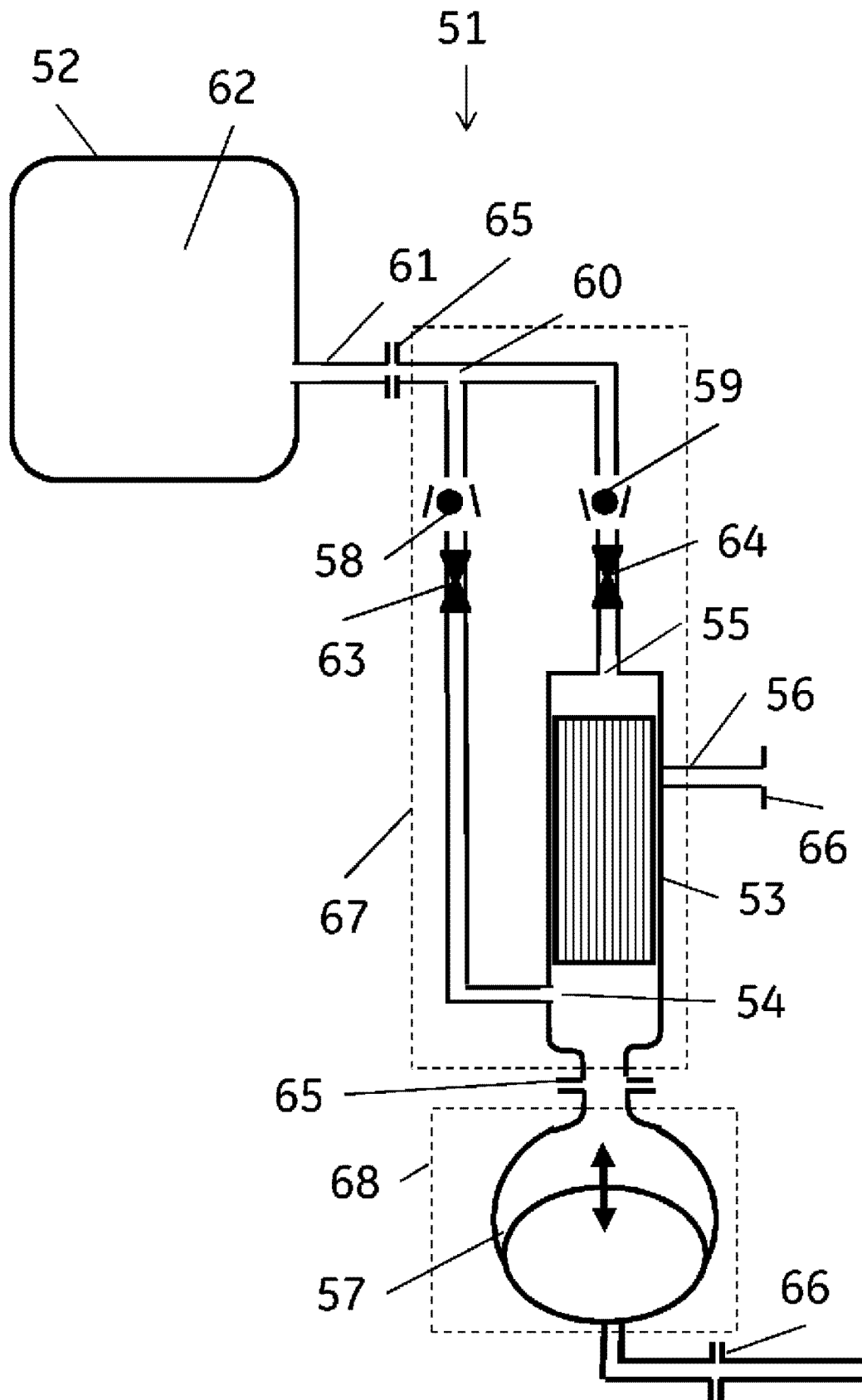


图 4