



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112424332 A

(43) 申请公布日 2021.02.26

(21) 申请号 201980032745.7

(22) 申请日 2019.03.18

(30) 优先权数据

2018/5179 2018.03.16 BE

62/644,014 2018.03.16 US

62/728,405 2018.09.07 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.11.16

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2019/056732 2019.03.18

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/175442 EN 2019.09.19

(71) 申请人 尤尼沃尔塞尔斯技术股份公司

地址 比利时尼威尔斯市

(72) 发明人 J·卡斯蒂略 B·迈雷斯

A·乔特尔

塞巴斯蒂安·珍-皮尔·米歇尔·

罗德里格斯

A·瓦恩哈瓦尔

(74) 专利代理机构 南京苏创专利代理事务所

(普通合伙) 32273

代理人 常晓慧

(51) Int.Cl.

G12M 1/12 (2006.01)

G12M 1/30 (2006.01)

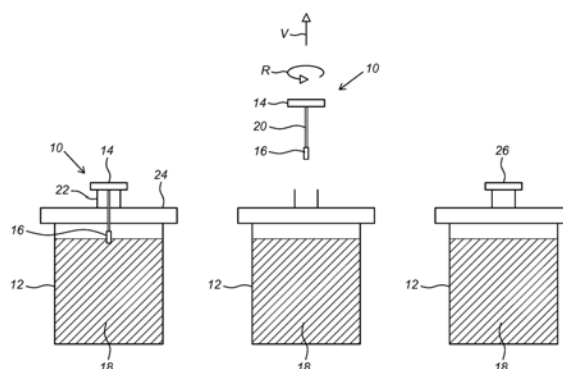
权利要求书4页 说明书18页 附图32页

(54) 发明名称

固定床取样器及相关方法

(57) 摘要

公开了一种与用于生长细胞培养物的生物反应器一起使用的取样器。在一个实施例中,所述生物反应器包括结构化固定床,所述结构化固定床包括从细胞培养系统回收细胞样品的可拆卸取样部分。还公开了相关装置和方法。



1. 一种与细胞培养系统一起使用的装置,包括:
结构化固定床,所述结构化固定床包括从细胞培养系统回收细胞样品的可拆卸取样部分。
2. 根据权利要求1所述的装置,其中所述结构化固定床包括彼此相邻的至少两个材料层,可拆卸取样部分至少部分位于所述至少两个材料层之间。
3. 根据权利要求2所述的装置,其中所述至少两个层包括:(1) 细胞固定层,且所述可拆卸取样部分具有与第一细胞固定层接触的第一面及与第二细胞固定层接触的第二面;或(2) 一个细胞固定层和一个隔离层。
4. 根据权利要求1所述的装置,其中所述可拆卸取样部分包括一根或多根纤维。
5. 根据权利要求1所述的装置,其中所述结构化固定床和所述可拆卸取样部分包括非织物材料。
6. 根据权利要求1所述的装置,其中所述可拆卸取样部分包括材料层。
7. 根据权利要求6所述的装置,其中所述结构化固定床包括细胞固定层,且构成可拆卸取样部分的材料层与所述细胞固定层直接接触。
8. 根据权利要求1所述的装置,进一步包括通过连接器与所述可拆卸取样部分机械连接的定位器。
9. 根据权利要求1所述的装置,其中所述结构化固定床包括多个可拆卸取样部分。
10. 根据权利要求1所述的装置,其中所述结构化固定床包括辊床或螺旋床。
11. 根据权利要求1所述的装置,其中所述可拆卸取样部分与结构化固定床相邻。
12. 根据权利要求1所述的装置,其中所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。
13. 一种生物反应器,包括权利要求1所述的装置。
14. 根据权利要求13所述的生物反应器,包括接收带向上流体流的结构化固定床的外室,及将流体流返回到包括搅拌器的生物反应器的下部的内室。
15. 一种与生长细胞培养物的生物反应器一起使用的装置,包括:
固定床,所述固定床包括从细胞培养物中回收细胞样品、包括一根或多根纤维的可拆卸取样部分。
16. 根据权利要求15所述的装置,其中所述固定床包括非结构化固定床。
17. 根据权利要求15所述的装置,其中所述固定床包括结构化固定床。
18. 根据权利要求15所述的装置,其中所述可拆卸取样部分包括非织物材料。
19. 根据权利要求15所述的装置,其中所述可拆卸取样部分位于所述结构化固定床的两个层之间。
20. 根据权利要求15所述的装置,其中所述可拆卸取样部分与所述固定床相邻。
21. 根据权利要求15所述的装置,其中所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。
22. 一种细胞培养物取样装置,包括:
生物反应器,所述生物反应器包括含可拆卸取样部分的结构化固定床;及
与所述生物反应器相连的取样器,用于从所述结构化固定床回收所述可拆卸取样部分。

23. 根据权利要求22所述的装置,其中所述可拆卸取样部分包括定位器,所述定位器适用于将取样部分定位在所述结构化固定床内,并可以通过生物反应器内的端口接触到所述定位器。

24. 根据权利要求22所述的装置,进一步包括通过可释放连接与所述端口连接的支撑件,例如,包括位于所述支撑件上的槽及位于所述端口上的杆的卡口式组件,螺纹连接,或者可释放的闩,所述支撑件与所述定位器连接。

25. 根据权利要求24所述的装置,其中所述支撑件固定到定位器,或与定位器可释放地连接,例如,通过挠性部分与部分定位器可释放地啮合,一起轴向移动,允许支撑件转动,但定位器不转动。

26. 根据权利要求24所述的装置,其中所述支撑件包括弱连接,用于将所述支撑件分成多个部分,用于拆下所述可拆卸取样部分。

27. 根据权利要求22所述的装置,其中所述取样器包括刀头,用于形成所述结构化固定床的所述可拆卸取样部分。

28. 根据权利要求22所述的装置,其中所述取样器包括凹槽,所述凹槽与和端口连接的锁销啮合,引导取样器到其位置。

29. 根据权利要求22所述的装置,进一步包括一容器,用于在所述可拆卸取样部分从生物反应器拆下来时维持其无菌条件。

30. 根据权利要求29所述的装置,其中所述容器通过无菌连接与生物反应器连接,从而在所述容器且包括取样器定义的室内维持无菌条件,并且维持生物反应器的无菌条件。

31. 根据权利要求29所述的装置,其中所述容器包括垫片,用于接收与可拆卸取样部分连接的连接器。

32. 根据权利要求30所述的装置,其中所述容器包括软套筒。

33. 根据权利要求32所述的装置,其中所述软套筒与刚性弯头连接。

34. 根据权利要求22所述的装置,其中所述可拆卸取样部分包括与所述可拆卸取样部分连接的定位器,所述定位器与致动器连接,用于将所述可拆卸取样部分从所述结构化固定床撤回。

35. 根据权利要求34所述的装置,其中所述致动器包括定子和转子。

36. 根据权利要求34所述的装置,其中所述致动器与套筒连接,用于接收与取样部分连接的定位器。

37. 根据权利要求35所述的装置,其中所述定子包括环绕所述转子的软袋。

38. 根据权利要求35所述的装置,其中所述定子包括支撑所述转子的托架。

39. 根据权利要求34所述的装置,进一步包括用于控制所述致动器的控制器。

40. 根据权利要求39所述的装置,其中所述控制器适用于接收与所述生物反应器连接的至少一个传感器的输出信号。

41. 根据权利要求22所述的装置,其中所述可拆卸取样部分与定位器连接,与用于生物反应器的端口的帽构成可释放连接。

42. 根据权利要求41所述的装置,其中所述可释放连接包括磁性耦合。

43. 根据权利要求41所述的装置,其中所述端口包括接收器,用于接收所述定位器的突起,防止相对转动。

44. 根据权利要求22-43任一项所述的装置,其中所述结构化固定床包括螺旋床。
45. 根据权利要求22-43任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分与结构化固定床相邻。
46. 根据权利要求22-43任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。
47. 一种细胞培养物取样装置,包括:
生物反应器,所述生物反应器包括含可拆卸取样部分的床;及
与所述生物反应器相连的取样器,用于从所述床回收所述可拆卸取样部分,所述取样器包括与所述可拆卸取样部分可释放连接的定位器。
48. 根据权利要求47所述的装置,其中所述定位器通过夹子与所述可拆卸取样部分可释放地连接。
49. 根据权利要求47-48任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分位于结构化固定床内或其附近。
50. 根据权利要求47-48任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。
51. 一种带端口生物反应器中床上细胞培养物取样装置,包括:
与所述生物反应器连接的取样器,用于通过端口回收所述床的取样部分,所述取样器包括致动器,用于从床撤回所述取样部分。
52. 根据权利要求51所述的装置,其中所述致动器与容器连接,用于接收与取样部分连接的定位器。
53. 根据权利要求51所述的装置,其中所述致动器包括定子和转子。
54. 根据权利要求53所述的装置,其中所述定子包括环绕所述转子的软袋。
55. 根据权利要求53所述的装置,其中所述定子包括支撑所述转子的托架。
56. 根据权利要求51所述的装置,进一步包括用于控制所述致动器的控制器。
57. 根据权利要求56所述的装置,其中所述控制器适用于接收与所述生物反应器连接的至少一个传感器的输出信号。
58. 根据权利要求51-57任一项所述的装置,其中所述床包括至少有两个层的结构化固定床,所述取样部分包括位于所述至少两个层之间的材料层。
59. 根据权利要求51-57任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分位于结构化固定床内或其附近。
60. 根据权利要求51-57任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。
61. 一种含结构化固定床的生物反应器中细胞培养物的取样方法,包括:
从所述生物反应器的所述结构化固定床回收可拆卸取样部分。
62. 根据权利要求61所述的方法,其中所述结构化固定床包括至少两个层,所述方法包括在回收步骤之前将可拆卸取样部分的至少一部分置于所述至少两个层之间。
63. 根据权利要求61所述的方法,其中所述回收步骤包括将与可拆卸取样部分连接的定位器从生物反应器撤回,直到所述可拆卸取样部分被接收在通过无菌连接器与所述生物反应器连接的容器内。

64. 根据权利要求63所述的方法,其中所述撤回步骤包括采用致动器,所述致动器通过基于生物反应器感测条件的控制器控制。

65. 根据权利要求61-64任一项所述的方法,进一步包括对从可拆卸取样部分上取下来的细胞进行计数的步骤。

66. 根据权利要求61-64任一项所述的方法,进一步包括对所述细胞进行染色的步骤。

67. 根据权利要求61-66任一项所述的方法,进一步包括对从可拆卸取样部分上取下来的细胞进行细胞内病毒提取的步骤。

68. 一种将取样部分插入到具有两层或更多层的固定床内的方法,包括:

将所述取样部分定位在所述固定床的两个层或多个层内或其附近。

69. 一种制造固定床的方法,其中所述固定床包括一个或多个取样部分,所述方法包括引导所述取样部分与所述固定床其它部分分离的措施。

70. 根据权利要求69所述的方法,进一步包括对所述床进行打孔或预切割,从而形成一个或多个取样部分的步骤。

71. 根据权利要求69所述的方法,进一步包括在所述一个或多个取样部分上面培养细胞的步骤。

固定床取样器及相关方法

[0001] 本专利申请要求序列号为62/728,405、62/644,014的美国临时专利申请及比利时专利申请BE2018/5179的权益,通过引用,这些专利的公开内容都纳入本申请中。通过引用,美国专利申请公开No.2018/0282678、国际专利申请PCT/EP2018/076354、美国临时专利申请62/711,070和美国临时专利申请62/725,545的公开内容都纳入本申请中。

技术领域

[0002] 本申请大体上涉及细胞培养领域,更具体地说,涉及一种固定床细胞培养装置的取样器和相关方法。

背景技术

[0003] 有些细胞培养装置,例如生物反应器,采用“固定床”用于其上截留细胞的生长或用于在其上粘附和生长的粘附细胞的生长。这些高细胞密度生物反应器的使用者无法在培养之前、期间或之后在任何地点轻松取样以用于任何用途(例如,开展细胞相关测定,例如,涉及活性和密度的那些测定)。目前,从固定床采集过程中样品的唯一方法是在操作期间采用工具,例如,镊子,伸入到生物反应器内,并手动抽出一块或一部分固定床。这种操作需要非常灵巧、小心,操作起来有难度。此外,这种操作肯定会引起不期望的扰动,存在破坏细胞培养环境及样本的风险。

[0004] 此外,为了维持必要的无菌条件,生物反应器通常位于隔离单元,如层流柜或生物安全柜内,在隔离单元内,操作人员进入开展此类操作及在里面的移动自由度都受到限制。虽然小型生物反应器可以放在所述隔离单元内,但是,生产规格的大型生物反应器很难放在所述柜内以实现这种结果。此外,整个操作期间都必须保持无菌,这意味着取样操作人员必须遵守严格的消毒操作程序。当必须采用抽取工具,如镊子时,这一点非常具有挑战性。

[0005] 人们已经提出采用无菌(或消毒)传感器,如所谓“生物量”传感器来评估细胞密度。但是,这些传感器缺乏足够稳健的技术,并且无法真正地将细胞作为样品直接测定。采用生物量传感器间接测定细胞的特性,其准确性远低于直接测定细胞。此外,流化床或典型的搅拌生物反应器,可以采集其内截留细胞的液体,与它们相反的是,固定床生物反应器采用无菌液体传感器时,只能根据检测到的流体内生长过程副产物(代谢物)得到一些信息,根据这些信息可以对有关细胞的条件进行推测或估计。因此,目前的取样器和方法无法提供准确且及时的工具,用于开发固定床生物反应器可靠的细胞培养工艺。

[0006] 因此,需要一种能够从固定床采集可靠样品及与其相关联的细胞的装置。所述装置取样简单,成本低,同时可以维持无菌条件,从而防止(生物反应器内部和外部)污染,并避免对固定床细胞培养环境造成有害的破坏。

发明内容

[0007] 本发明的目的是提供一种以简单、便宜且可靠的方式从细胞培养物中采集一个或多个样品,同时维持无菌或消毒条件,并且同时还能避免对固定床细胞培养环境造成有害

破坏的装置。

[0008] 根据本发明的一个方面,提供一种细胞生长固定床(例如,细胞培养装置或生物反应器)的取样器。所提出的所述取样器有几种形式:(1)允许操作人员以非无菌方式取样的取样器(例如,当生物反应器放在层流柜或生物安全柜内时);(2)允许操作人员以无菌方式取样的取样器;及(3)允许抽出更大体积或部分固定床的取样器,这种操作是在细胞培养工艺过程中或结束时所需的。对于后两种形式的取样器,取样过程本身的无菌性确保了生物反应器并不限于在无菌环境中操作,同时确保了保护工艺和环境。所述取样器通过促进以下几方面而改善了所述生物反应器的操作性:(a)需要从固定床细胞培养物取样且不造成有害的破坏或影响的操作(手动操作,或可能采用部分自动操作或全自动操作),及(b)与固定床反应器有关的隔离和无菌性限制方式,通过这种方式从而可以在严格的无菌区域外操作,不存在污染生物反应器本身的风险或环境污染样品的风险,及生物反应器内物质或样品污染环境的风险。但是,此外还提出了一种取样器,所述取样器还能够在细胞培养装置(生物反应器)在无菌环境中操作时使用(例如,小规格(例如,<600m²表面积),生物反应器也可以与隔离器、柜等连接使用。

[0009] 根据本发明的一个方面,公开了一种与细胞培养系统(例如,生物反应器、发酵罐等)一起使用的装置。所述装置包括结构化固定床,所述结构化固定床包括从细胞培养系统回收细胞样品的可拆卸取样部分。

[0010] 在一些实施例中,所述结构化固定床包括彼此相邻的至少两个材料层,可拆卸取样部分至少部分位于所述至少两个材料层之间。在一些实施例中,所述至少两个材料层包括:(1)细胞固定层,及所述可拆卸取样部分具有与第一细胞固定层接触的第一面及与第二细胞固定层接触的第二面;或(2)一个细胞固定层和一个隔离层。在一些实施例中,所述可拆卸取样部分包括一根或多根纤维,在一些实施例中,所述可拆卸取样部分可以包括非织物材料。在任何实施例中,所述可拆卸取样部分可包括材料层。在一些实施例中,所述结构化固定床包括细胞固定层,且构成可拆卸取样部分的材料层与所述细胞固定层直接接触。

[0011] 在一些实施例中,所述装置包括通过连接器与所述可拆卸取样部分机械连接的定位器。在一些实施例中,所述结构化固定床包括多个可拆卸取样部分。在一些实施例中,所述结构化固定床包括辊床或螺旋床,在一些实施例中,所述可拆卸取样部分与所述结构化固定床相邻,在一些实施例中,所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。

[0012] 任何公开实施例的装置都适用于生物反应器。在一个示范性形式中,所述生物反应器包括接收带向上流体流的结构化固定床的外室。提供一个内室,用于将流体流返回到包括搅拌器的生物反应器的下面部分。

[0013] 根据本发明的另一个方面,提供一种与生长细胞培养物的生物反应器一起使用的装置。所述装置包括结构化固定床,所述结构化固定床包括从细胞培养物中回收细胞样品、包括一根或多根纤维的可拆卸取样部分。

[0014] 在一些实施例中,所述固定床包括非结构化固定床。在一些实施例中,所述固定床包括结构化固定床。在一些实施例中,所述可拆卸取样部分可包括非织物材料。在一些实施例中,所述可拆卸取样部分位于固定床的两层之间,在一些实施例中,所述可拆卸取样部分位于所述固定床附近(或是这两者的结合)。在这些或其它实施例中,所述可拆卸取样部分

是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。

[0015] 在一些实施例中,所述取样部分可以与生物反应器内的固定床接触,且并不需要插在固定床内或位于固定床内。在一些实施例中,所述取样部分可以位于所述固定床附近,并与所述固定床表面(例如,固定床的侧表面或上表面)接触,并且与所述定位器连接。在一些实施例中,所述取样部分包括折叠部分。在一些实施例中,所述取样部分包括折叠部分和焊接部分。

[0016] 根据本发明的另一个方面,提供一种细胞培养物取样装置。所述装置包括含结构化固定床的生物反应器,所述结构化固定床包括可拆卸取样部分。取样器与所述生物反应器相连,用于从结构化固定床回收所述可拆卸取样部分。

[0017] 在一些实施例中,所述可拆卸取样部分包括定位器,所述定位器适用于将取样部分定位在所述结构化固定床内,并可以通过生物反应器内的端口接触到。在一些实施例中,一个支撑件通过可释放连接与所述端口连接,例如,包括位于所述支撑件上的槽及位于所述端口上的杆的卡口式组件,螺纹连接,或者可释放的闩,所述支撑件与定位器连接。在一些实施例中,所述支撑件固定到定位器,或与定位器可释放的连接,例如,通过挠性部分与部分定位器可释放啮合,以在轴向方向一起移动,允许支撑件转动,但定位器不转动。在一些实施例中,所述支撑件包括弱连接,用于将所述支撑件分成多个部分,用于拆下可拆卸取样部分。

[0018] 在一些实施例中,所述取样器包括刀头,用于形成结构化固定床的可拆卸取样部分。在一些实施例中,所述取样器包括凹槽,所述凹槽与和端口连接的锁销啮合,引导取样器到其位置。

[0019] 在一些实施例中,提供一个容器,用于在可拆卸取样部分从生物反应器拆下来时维持其无菌条件。在一些实施例中,所述容器通过无菌连接与生物反应器连接,从而在所述容器,且包括取样器定义的室内维持无菌条件,并且维持生物反应器的无菌条件。在一些实施例中,所述容器包括垫片,用于接收与可拆卸取样部分连接的连接器。在一些实施例中,所述容器包括软套筒,在一些实施例中,所述软套筒与刚性弯头连接。

[0020] 在一些实施例中,所述可拆卸取样部分包括与所述可拆卸取样部分连接的定位器,所述定位器与致动器连接,用于将所述可拆卸取样部分从结构化固定床撤回。在一些实施例中,所述致动器包括定子和转子。在一些实施例中,所述致动器与套筒连接,用于接收与取样部分连接的定位器。在一些实施例中,所述定子包括环绕转子的软袋。在一些实施例中,所述定子包括支撑转子的托架。

[0021] 在一些实施例中,提供控制器用于控制致动器。在一些实施例中,所述控制器适用于接收与所述生物反应器连接的至少一个传感器的输出信号。

[0022] 在一些实施例中,所述可拆卸取样部分与定位器连接,与生物反应器的端口帽构成可释放连接。在一些实施例中,所述可释放连接包括磁性耦合。在一些实施例中,所述端口包括接收器,用于接收所述定位器的突起,防止相对转动。

[0023] 在任何公开的实施例中,所述结构化固定床可以包括辊床或螺旋床。在一些实施例中,所述可拆卸取样部分与结构化固定床相邻。在一些实施例中,所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。

[0024] 此外,本发明涉及一种细胞培养物取样装置。所述装置包括含床的生物反应器,所

述床包括与生物反应器连接的可拆卸取样部分和取样器,用于从所述床回收可拆卸取样部分。所述取样器包括与所述可拆卸取样部分可释放连接的定位器。

[0025] 在一些实施例中,所述定位器通过夹子与所述可拆卸取样部分可释放连接。在一些实施例中,所述可拆卸取样部分位于结构化固定床内或其附近。在一些实施例中,所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。

[0026] 本发明的另一个方面涉及一种带端口生物反应器中床上细胞培养物取样装置。所述装置包括与生物反应器连接的取样器,用于通过端口回收所述床的取样部分,所述取样器包括致动器,用于从床撤回所述取样部分。

[0027] 在一些实施例中,所述致动器与容器连接,所述容器用于接收与取样部分连接的定位器。在一些实施例中,所述致动器包括定子和转子。在一些实施例中,所述定子包括环绕转子的软袋。

[0028] 在一些实施例中,所述定子包括支撑转子的托架。在一些实施例中,提供控制器用于控制致动器。在一些实施例中,所述控制器适用于接收与所述生物反应器连接的至少一个传感器的输出信号。

[0029] 在一些实施例中,所述床包括至少有两层的结构化固定床,所述取样部分包括位于所述至少两层之间的材料层。在一些实施例中,所述可拆卸取样部分位于结构化固定床内或其附近。在一些实施例中,所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。

[0030] 本发明的另一个方面涉及一种细胞培养系统(例如,具有结构化固定床的生物反应器)细胞培养物的取样方法。所述方法包括将可拆卸取样部分从生物反应器的结构化固定床回收的步骤。在一些实施例中,所述结构化固定床包括至少两层,所述方法包括在回收步骤之前将可拆卸取样部分的至少一部分置于所述至少两层之间。

[0031] 在一些实施例中,所述回收步骤包括将与可拆卸取样部分连接的定位器从生物反应器撤回,直到所述可拆卸取样部分被接收在通过无菌连接器与所述生物反应器连接的容器内。在一些实施例中,所述撤回步骤包括采用致动器,所述致动器通过基于生物反应器感测条件的控制器控制。在一些实施例中,执行以下任一或全部步骤:(1)对从可拆卸取样部分上取下来的细胞进行计数;(2)对细胞进行染色或(3)从可拆卸取样部分取下来的细胞提取细胞内病毒。

[0032] 此外,本发明涉及一种将取样部分插入到两层或多层固定床内的方法,包括将所述取样部分定位在所述固定床的所述两层或多层内或其附近。

[0033] 本发明的另一个方面涉及一种制造固定床的方法,其中所述固定床包括一个或多个取样部分,所述方法包括引导所述取样部分与所述固定床其它部分分离的措施。

[0034] 在一些实施例中,所述方法包括对所述床进行打孔或预切割,从而形成一个或多个取样部分的步骤。在一些实施例中,所述方法包括在一个或多个取样部分上面培养细胞的步骤。

附图说明

[0035] 本发明的新特征特别在所附权利要求书中给出。参考阐明本发明原理的说明性实施例中给出的下述详细说明及下述附图,可以更好地理解本发明的特征和优点。

- [0036] 图1是本发明细胞培养系统(例如,生物反应器)取样器第一个实施例的示意图。
- [0037] 图1A示出了螺旋床形式的结构化固定床的一个示例。
- [0038] 图1B是非结构化固定床中使用的取样器的示意图,其中定位器包括至少一根纤维。
- [0039] 图1C示出了结构化固定床的替代形式。
- [0040] 图1D、1E和1F示出了将与生物反应器可拆卸取样部分连接的定位器进行定位的各种方式。
- [0041] 图2示出了生物反应器取样器的一个替代实施例,包括外部容器(例如,套筒),一旦取样部分从生物反应器撤回,外部容器即对其进行接收。
- [0042] 图3示出了生物反应器取样器的另一个实施例。
- [0043] 图3A、3B和3C示出了取样器的又一个实施例。
- [0044] 图4、5和6示出了遮盖生物反应器盖子上取样端口的盖子。
- [0045] 图7、图8和图9示出了生物反应器取样器的其它方面。
- [0046] 图10、11、12、13、14A、14B、15、16A、16B、17、18、19、20和21示出了将生物反应器内细胞培养物取样用取样部分夹紧到定位器上的各种方式。
- [0047] 图22和23示出了取样器的替代实施例。
- [0048] 图24示出了将取样部分从生物反应器撤回的致动器的一个可能实施例。
- [0049] 图25示出了将取样部分从生物反应器撤回的致动器的另一个实施例。
- [0050] 图26示出了采用非-接触式耦合连接定位器的布置,所述定位器将生物反应器中床的取样部分定位到生物反应器的可拆卸帽。
- [0051] 图27和图28示出了与一个或多个所公开的取样器一起使用的生物器的另一种可能布置。
- [0052] 图29示出了包括取样器的生物反应器的控制系统。
- [0053] 图30、31、32、33、34、35、36、37、38、39和40示出了本发明生物反应器取样器的示例应用。
- [0054] 图41、42、43和44示出了固定床生物反应器内细胞培养物取样用取样部分的各种方案。
- [0055] 图45示出了所述任一公开取样技术或其它技术可以使用的生物反应器的一个实施例。

具体实施方式

[0056] 现在参考图1,图1示出了根据本发明的一个方面的细胞培养系统(例如,生物反应器12、发酵罐等)的取样器10。在该示例中,假设生物反应器12放在隔离单元(例如,层流柜、外部隔离器等)内,在外部无菌条件下操作。但是,正如后面说明中进一步阐明的那样,取样器10还可以在其它环境中使用。

[0057] 取样器10可以包括支撑部,用于与生物反应器12中提供进入其内室进口的开孔连接。在所示实施例中,所述支撑部包括盖或帽14,用于密封生物反应器12的开孔,从而维持内室的无菌性,即使未放在隔离单元内亦如此。所述支撑部可以支撑可拆卸取样部分16,将其定位在生物反应器12内室中的固定床18内。

[0058] 取样部分16可以包括基质层(例如,材料层、挠性材料层等,所述层可以是加长带的形式),其与固定床本身类似,适用于促进细胞生长或细胞固定/截留。所述基质层可以替代地包括一根或多根纤维,包括那些以非织物材料层布置的纤维,正如下述说明中进一步阐明的那样。或者,取样部分16可以包括带孔、撕开缝或其它构造的固定床10的一部分,所述孔、撕开缝或其它构造用于将取样部分16与固定床其它部分分开。或者,取样部分16可以是分离结构,用于在组装生物反应器12的过程期间,定位在固定床18内(正如下面的讨论中阐明的那样)。在这种情况下,取样部分16可以从固定床其它部分分离和拆卸(例如,在固定床内设置孔或撕开缝,或预切割固定床或其它分离取样部分的构造,从而形成一个或多个可拆卸(可分离)部分)。

[0059] 取样部分16可与定位器20可拆卸地连接,便于将取样部分16保持在固定床18的合适位置,并且可以将其从固定床18上拆卸下来。将取样部分16预先定位在固定床18内可以借助定位器20通过手,或者采用工具(如镊子(未示出)),将取样部分16穿过生物反应器12的盖子24中的端口22(或通过取下整个盖子)实现。这可以在生物处理操作开始之前,甚至在生物反应器组装或固定床制造和组装期间完成。

[0060] 固定床18可以包括实现细胞生长或细胞固定的任何基质,并且可以包括,例如,结构化固定床(这指的是其采用容易复制,通常同质的、基本上固定的结构形成,因此并非随机定向或非结构化的,而且,正如可以理解的那样,可以采用各种规格或形状,同时满足这种条件)。固定床18的材料可以是织物、非织物、纤维基质或其它形式,可以由各种聚合物材料形成,包括但不限于聚乙烯和聚对苯二甲酸乙二醇酯。在一个实施例中,如图1A顶视图所示,结构化固定床包括布置成至少两层的非织物材料18a,细胞在这些层内生长。因此,这些层被视为细胞固定层。在所示具体形式中,非织物材料18a以辊式或螺旋形式布置,两个细胞固定层中的每层都被隔离层18b隔开,促进各层之间培养液和培养基的流动。取样部分16可以是细胞固定层的预定义部分。它可以是如所示出的位于辊式或螺旋形式的床18的两层之间的分离基质层,例如,细胞固定(或非织物材料)层18a。或者,取样部分可以位于隔离层和相邻细胞固定层之间。或者,固定床18仅具有单层细胞固定层,所述细胞固定层与单层隔离层以交替辊式或螺旋形式布置。

[0061] 但是,以上仅仅是一个示例,其目的并非限制取样部分16与任何形式固定床18的连接方式(例如,定位在纤维基质内,或层的布置并非所示的螺旋缠绕)。例如,图1B示出了一种非结构化固定床,其可能包括多根随机定位的纤维18c。在此实施例中,取样部分16可以包括纤维18c中的一根纤维。如图所示,纤维18c可以与定位器20连接(或者作为非织物纤维的基质)。或者,不止一根纤维可以与定位器20连接,充当取样部分(例如,非织物材料,正如前文所示)。

[0062] 虽然图1A示出的结构化固定床18为辊式、大体上圆柱形的布置,具有至少两层(包括细胞固定层和隔离层18a、18b),但是,应该理解的是,也可以采用其它形式。因此,参考图1C,固定床18可以包括多个连续的任何形状(例如,圆形、方形)的同心层18a。或者,层18a可以是线性的。在这些情况的任一种情况中,可以提供或不提供隔离层18b,根据期望的取样方法,取样部分16可以位于床18的任何位置(或多个位置),但并不限于此。

[0063] 回到图1,锚固点,例如,与生物反应器12的盖子24连接的端口22的侧壁,适用于与盖或帽14形成密封,从而确保维持无菌性。帽14可以与端口22可释放地连接。这一点可以通

过螺纹或其它固定措施实现,但是,可释放连接(例如,卡口式组件,正如下述说明中进一步阐明的那样),或者带可释放闩的门(推-拉式布置,或甚至摩擦配合或过盈配合)。

[0064] 为了确保在所示形式中取样部分16上实现细胞生长,定位器20可以延伸一段距离,足够确保取样部分16至少部分位于固定床18内。正如可以理解的那样,这段距离可以根据生物反应器12的规格和形状,以及期望的取样位置、床的类型或培养类型而变化。定位器20可以与作为支撑件的盖或帽14连接,但是,也可以与它们分开(从而帽14可以被拆下来,而定位器20仍保持在原位,然后,可以撤回,帽可以重新放回)。前面的形式更容易适用于非结构化固定床,例如,图1B所示,允许定位器20穿过端口22,定位在非结构化床内的非结构材料中。结构化固定床更适合后一种形式,因为取样部分16可以预先定位在结构化固定床各层内,并保持在其中,然后,定位器20与帽14连接(如果需要的话)。

[0065] 在任何公开实施例中,分别构成基质组件中隔离区和固定区的隔离层和/或细胞固定层优选采用选自聚酯、聚乙烯、聚丙烯、聚酰胺、等离子处理聚乙烯、等离子处理聚酯、等离子处理聚丙烯或等离子处理聚酰胺的生物相容聚合物制造。所述层可以是亲水性或疏水性。细胞固定层优选是亲水性。

[0066] 这两层的厚度优选是0.05mm至3mm,更优选是0.1至2mm或0.1至1mm。细胞固定层的合适材料可以是织物或非织物材料。优选采用非织物材料。非织物材料与织物材料相反,是一种不是通过编织或针织形成的织物,并且不需要将纤维转换成纱线。非织物广泛定义为通过纤维或丝(和通过穿孔薄膜)机械、热或化学缠结而结合在一起的片状结构或网状结构。本申请中使用的非织物材料的性质可以是任何来源的性质,包括天然纤维或合成纤维。非织物优选由聚合物制造,例如,聚酯或聚丙烯。本发明中使用的细胞固定层可以从聚对苯二甲酸乙二醇酯非织物中选取。非织物材料可以经等离子处理,从而增强细胞粘附和流动。

[0067] 隔离层可以由具有筛孔尺寸的上述(生物相容)聚合物材料组成。在一个实施例中,隔离层是合成织物或结构。在另一个实施例中,隔离层是支撑结构。所述结构可以采用生物聚合物(例如,褐藻胶)制造。适合此用途的其它材料有二氧化硅、聚苯乙烯、琼脂糖、苯乙烯二乙烯苯、聚丙烯腈或乳胶。为了减少生物负荷,隔离层可以开展伽马辐照。

[0068] 根据生物反应器的应用和类型,基质组件的设计可以采用多种形式。在本发明的实施例中,固定区和隔离区交替布置。交替布置指的是每个隔离区后面紧接着布置一个细胞固定区,细胞固定区本身后面紧接着一个隔离区。根据基质的使用和/或引入基质的生物反应器,交替布置区可以如附图所示垂直位置交替(参见其它)或水平位置交替。在该实施例中,细胞固定层的一层或多层可以叠加在一层或多层隔离层上(或反过来)。如果认为需要的话,这种配置可以重复几次,从而建立几个固定区和隔离区堆叠。理想的情况是,末端配置包括上述各层交替1至500次。堆叠层可以位于框架或盒内或在其周边密封/连接。在另一个实施例中,完成的堆叠可以绕轴或芯滚动,从而实现螺旋配置。

[0069] 固定区和隔离区中采用的层数可以根据应用、层的特点(尺寸、规格等)及期望的结果选择。因此,固定区或隔离区内的层数可以是1至20层,更优选1至10层,甚至更优选1至5层。

[0070] 正如提到的那样,隔离区的存在在基质内形成了培养基的流动空间。这样改善了培养基通过基质的循环,从而达到所有培养细胞。在隔离区包括一个隔离层和固定区包括两个固定层的实施例中,这种效果甚至更加得到了增强。通过隔离区在基质内流动的培养

基相对细胞固定区呈切向流动。

[0071] 定位器20及其支撑件(帽14)之间的可释放连接示例在图1C、1D和1E中示出。在图1C中,帽14包括挠性突起14a,其形成接收器14b,用于接收和保持定位器20的部分21(所述部分21也可以构成独立结构,例如,套筒的一部分)。正如可以了解的那样,接收器14b内的部分21被保持,阻止定位器20轴向移动,除非产生足够的力来分离突起,但仍然允许自由转动。因此,帽14可以转动拆除(如果采用卡口或螺纹连接的话),并不导致定位器20(以及从而导致取样部分16)相对固定床18转动,它们的转动可能导致不期望的破坏或结果。帽14仍然可以在垂直方向撤回,虽然,包括定位器20保持连接,或与其分离(在这种情况下,可以接近和独立拆除帽14)。同样,定位器20连同取样部分16可以定位在生物反应器12内,然后,帽14与定位器20连接。当然,这种布置也可以反过来,从而突起位于套筒/定位器上,啮合部分位于定位器上。

[0072] 图1D示出了其中可拆卸部件14c包括构成接收器14b的突起14a的一种情况。可以采用紧固件,例如,螺钉14d、夹子或按扣,将部件14c固定到帽14上。采用这种布置,部件14c可以在帽14拆除之前松开,一旦就位,帽14可以与部件14c连接。还可以提供密封件(如O-形环14e),用于密封通过紧固件/螺钉14d开孔的外部环境形成的接口。

[0073] 图1E示出了其中部件14c适用于通过帽14中的开孔0的另一种情况。然后,可以采用外部紧固件,例如,螺母14f,将可拆卸部件14c固定到帽14上,例如,通过沿其柄14g的螺纹拧紧。通过这种方式,部件14c可以在放置或拆除期间与帽14选择性连接,并且并不会干扰定位器20和取样部件16的位置。

[0074] 如所示出的,细胞可以在固定床18中培养,而且由于取样部分16的定位,细胞也可以在取样部分16上培养。当需要外部考察细胞的生长情况时,可以从取样部分16在固定床18内的位置拆下取样部分16。在一个示例中,这可以通过从端口22拆下帽14实现。这种拆卸如图1所示,涉及在一个方向转动帽14(以箭头R标注),释放连接(如下文讨论),然后,将其在垂直方向V抬起。端口22还可以与生物反应器12的侧壁或其它任何部分连接,其中移动将主要是水平移动。同样,帽或盖14还可以与生物反应器12的连接部件(例如,端口22或盖子24的另一部分)构成摩擦配合,提供固定床18的入口,其中仅垂直移动可以用于拆除帽14。

[0075] 定位器20可以从生物反应器12拆下来,以及将取样部分16从固定床18回收,并不需要较高协调性或灵巧性水平,且不需要采用会破坏固定床18周围材料的工具。然后,可以在生物反应器12外面考察取样部分16,对其上面的细胞进行评价,这些细胞直接代表了固定床18内相应细胞生长的情况。然后,可以任选采用第二盖子或帽26密封端口22,若需要重复这种取样操作时,还可以通过连接的定位器,将新的取样部分16定位在固定床18内。

[0076] 转到图2,图中示出了取样器100的第二个实施例,其可在生物反应器112内部无菌的环境下使用,但外部环境并非无菌(例如,其中生物反应器112规模或规格较大,采用传统隔离器或柜难度大、成本高或不可能)的环境中使用。在这种情况下,必须防止取样部分116(以及生物反应器112)在拆除期间和检查取样部分之前被污染。

[0077] 在此维持无菌条件的实施例中,基本部件与上面基本上相同,但是,增加隔板或屏障,任选为挠性套筒128形式。套筒128在锚固点(如端口122)和盖或帽114之间形成无菌屏障。套筒128可以由加长挠性材料,如薄的挠性聚合物材料,形成,并且可以布置成其不会干扰帽114和端口122之间的连接。

[0078] 当需要在培养期间从固定床118取样时,释放并取下帽114。因此,取样部分116通过定位器120从固定床118撤回,但是,由于环绕的套筒128及帽和端口建立的密封,因此仍然保持无菌条件。然后,可以通过机械或焊接(例如,采用热)方式,密封套筒128的一部分,如图2的箭头S所示,图中还密封了套筒的其它部分,盖住了生物反应器112的开孔(例如,端口122)。无菌连接形式的其它密封措施示例包括赛多利斯(Sartorius)经销的Quickseal或Clipster技术(参见,例如,美国专利申请公开2012/0017733和2011/0155274,通过引用,这些专利的公开内容纳入本申请中),或可以在套筒128的内部各部分之间提供机械密封,类似于可重新密封的软袋的“拉链-锁”方式。在任何情况下,取样部分116都保留在套筒分离/密封形成的室内无菌条件下,但是可以运送供进一步考察或处理,而且,由于盖子或帽重新盖好,生物反应器112内的物质也保持无菌条件。在外部环境无菌的情况中,则套筒128可以省略,而同样的部件用于按照要求的方式开展取样。

[0079] 有时需要对固定床本身一部分进行取样,例如,通过将其切断,并抽取-在细胞培养工艺结束,需要取更多细胞样品时。有人试图增加取样部分的材料或纤维数量来提高可用于样品分析的细胞数量。但是,采用这种方法,要实现要求的数量规模可能有困难。为此,取样器200的第三个实施例(图3所示),可以接受和回收或抽取固定床218相对更大的取样部分216a,从而更有效地收获更多数量的细胞。在所示实施例中,取样部分216与盖子或帽214连接,盖子或帽214与端口222连接。

[0080] 在一个实施例中,取样器200在一个端部包括刀头230,用于与固定床218的一部分啮合,从而将固定床切断或与其分离,形成取样部分216a。刀头230的远端可适用于切割固定床218的材料,并且可以具有尖端、刀片或两者,基本上象一根针,取样器200内部至少部分是管状或空心,用于捕获固定床218的一部分,一旦分离即将其拆除。最初,刀头230可以至少部分保持在生物反应器212内,但与固定床218隔开,例如,通过锁销234形式的保持器。锁销234可与刀头230的轨道或通道236相连,所述轨道或通道通常沿与生物反应器212相对运动方向的相对应方向延伸。

[0081] 取样部分216a可以在生物反应器212处于无菌环境的情况中使用,但是也可以包括套筒228,用于在刀头230周围空间保持无菌环境。当需要从固定床218取样时,可以操作刀头230,从而锁销234(原位置示出)在通道236中移动,直到刀头230至少部分陷入到固定床218的材料内(以向下箭头D和转动箭头R表示),从而在刀头230的内部空心室内采集固定床的“核心”样品。正如可以了解的那样,刀头230的移动距离可以仅仅通过改变通道或槽236的尺寸和几何形状调节。然后,刀头230可以从端口222缩回(上箭头U和反向转动箭头L,但是,仅在不同连接,如摩擦配合时,移动可以向上),套筒228按照上面所述方式切断/密封,从而维持无菌条件(两者相对刀头230和生物反应器212)。

[0082] 在另一种可能情况中,如图3A所示,取样器200可以预先定位在(结构化或其它)固定床218内。在其内部,取样器200可以包括预先切割或预先组装的基质或材料(例如,非织物材料),作为取样部分216,用于截留或生长细胞,从而取样器器身220可以充当定位器(类似于取样器10的定位器20)。形成取样器200的器身220的材料可以包括多个孔P,以允许细胞培养物流到器身内部,从而流到取样部分216的材料上截留或生长的任何细胞。从固定床218拆下取样部分216可以按照图3所示方式完成,如果需要维持无菌性的话,或者按照此处所示的任何其它方式完成。

[0083] 另一种选择是采用图3形式,但取样器200上面不配备刀头230,如图3B和3C侧视图和顶视图所示。相反,固定床218的一部分可以预先定位,适用于接收到取样器200以内时,作为取样部分216拆除。取样器200的器身内部可以包括夹子、倒钩或其它啮合结构,用于啮合或拆除取样部分216。同样,可以采用图3所示套筒维持无菌条件。

[0084] 图4-5示出了与端口22 (或122、222) 连接的盖子或帽14 (或114、214) 的一个示范性实施例。帽14可以包括迷宫式 (例如,L-形、X-形、S-形或类似蛇形) 槽15,用于与从端口22直立部分径向延伸的相应杆22a配合,从而形成可释放的卡口式组件。帽14还可以包括凸片17,方便用手抓住拆除,并且可以重复利用/重复密封。正如可以了解的那样,在一个盖子24上可以提供多个帽14,在固定床不同位置建立各种取样选择,正如图6所示。

[0085] 参考图7,并且采用图3实施例作为示例,图中示出了与生物反应器盖子224中端口222连接的临时支撑件240的布置。支撑件240布置用于接收取样器200,所述取样器200包括超大尺寸头200a,用于与支撑件240啮合。套筒228在生物反应器盖子224和取样器200之间连接,例如,沿超大尺寸头216a下侧表面。从图3还可以看到销234和槽236,与原始或抬高配置中的取样器200对应。

[0086] 当需要对固定床218取样时,支撑件240可以拆除,允许取样器200移动。这一点可通过穿透侧壁实现,但在一个具体实施例中,通过嵌在侧壁内的拉手242建立弱连接,当操作时,沿垂直线断开支撑件240各部分之间的相应连接。这样允许从支撑位置拆除支撑件240,然后,可以按照图2所示使用取样器200,并且在使用前仍然为取样部分提供可靠的支撑,并完全维持无菌条件。不采用拉手242,也可以采用其它弱连接形式,例如,穿孔撕裂线、拉链、闩和铰链 (活铰链或其它形式),或其它类似的布置。

[0087] 图8示出了图1实施例取样部分16的一个实施例,并示出了定位器20,其中定位器20以加长类杆结构形式示出。取样部分16可以包括与固定床18的材料相同或类似的材料,例如,一根或多根纤维的非织物。在简单形式中,如图8所示,取样部分16可以采用紧固件,如金属卷曲件40 (参见图16),形成固定连接,从而临时固定到定位器20上。虽然示出的取样部分16大体为矩形,但是,此实施例或任何实施例中的取样部分16可以是任何形状、厚度或尺寸。这样将允许细胞相对整个固定床的细胞密度相联系,不受限制。如图9所示,定位器20也可以与套筒128连接,如上所述,套筒128可以与生物反应器端口 (未示出) 连接。

[0088] 如上所述,取样部分16可以采用各种方式与定位器20可拆卸地连接,但是,其特征在于形成夹子,将两个结构夹在一起。如图10所示,定位器20的远端可以包括可拆卸部分42,该部分可以通过穿过各部件的紧固件F,将取样部分16的一部分夹在其间,从而将可拆卸部分42固定在原位。图11示出了一个实施例,其中夹子44夹在取样部分 (未示出) 和可能为T-形的定位器20的超大远端部分20a上面。图12示出了部分42可以通过焊接或粘附 (例如,胶粘) 而非采用可拆卸紧固件固定到定位器20上。图13示出了取样部分16可以直接成型到定位器20的远端,例如,通过包覆成型 (overmoulding)。还可以采用弹簧夹46将取样部分16夹紧到定位器20上,如图14所示,图15的布置采用带齿楔48和可转动夹50将取样部分16保持在原位。

[0089] 在另一个示例中,图16示出了定位器20可以配备一个可锻端20b形式的夹子 (例如,铝或其它软材料制造),并夹到取样部分16上面 (其可能具有超大尺寸头16a,以方便连接)。图17示出了安装生物反应器盖子24后,将帽14与定位器20连接的方式,定位器延伸通

过端口22,与帽14啮合,从而方便取样部分16的拆卸。图18示出了一种布置,其中连接器末端的可折叠翼20c可以折叠到取样部分16上方位置内,将其临时固定在原位。此外,取样部分16可以通过将其定位在定位器20远端的孔52内而保持在定位器20上面的位置,孔52包括挠性夹54,其通过致动器56强制移动到夹紧位置,如图19所示。图20示出了一种类似布置,其中采用外部部件58促使内部部件60(它们中的任一个可以与定位器连接,未示出)向下夹紧到取样部分16上,从而将其保持在原位(所述布置可以通过将内部部件弯曲,释放连接而反过来)。图21示出了可以采用与定位器20连接的紧固件62迫使保持座64移动到夹紧位置。

[0090] 还描述了一种组装生物反应器的方法。利用图1示例为例进行说明,生物反应器12可以这样组装:将(结构化或非结构化)固定床18的材料定位到其内室中。在组装结构化床时,例如,图1A中,取样部分16可以定位在床内,并在之前或之后与定位器20连接。盖子24可应用于生物反应器12,从而定位器穿到端口内或穿过端口,帽14放置到位(包括将其与定位器20连接,如果需要的话)。

[0091] 在组装非结构化床时,形成固定床18的材料可以如上文所述固定在生物反应器12内,并且可以采用相同的步骤。但是,由于取样部分16不需要预先定位在非结构化床内,盖子24可以使用,定位器20用于将取样部分16放在床18内。这可以独立于帽14完成,或与其一起完成,如果定位器20与所述帽连接的话。

[0092] 现在参考图22,图中示出了生物反应器312的取样器300的另一个实施例。在这个实施例中,按照其它实施例所述,将取样部分316定位在固定床318内,并在远端与软线(可以是金属、塑料等)形式的定位器320连接。套筒328可一端密封到生物反应器312的端口322,引导定位器320与密封帽340连接,密封套筒328的远端。可以通过公部件352和母部件354形成耦合350,将帽340固定到套筒328上,从而形成密封,维持生物反应器312的无菌条件。

[0093] 为了对固定床318进行取样,可以通过断开与定位器320连接或不连接的帽340,撤回取样部分316。如果连接的话,可以拉动帽340,将取样部分316通过套筒328的通道从固定床318撤回,最终离开其远端,从而操作人员可以接触到(或者,取样部分316位于套筒328内,密封套筒328的一端或两端)。如果未连接的话,则可以拆下帽340,手动将定位器320从套筒328撤回,从而撤回取样部分316。在大规模撤回取样部分316时,则帽340可以重新放好,以维持无菌条件,或者,帽340可以放在端口322上面,如果套筒328被拆除的话。

[0094] 在某些情况下,顶部空间有限(例如,当生物反应器放置在层流柜内时),因此,套筒328可以是挠性的,从而能够假设一个依赖位置(depending position),如图所示。这样,允许操作人员拉动定位器320,回收取样部分316,并不需要接近生物反应器312上面的空间。与完全挠性的套筒不同,正如从图23可以了解的那样,套筒可以包括一个或多个末端,例如,挠性末端328a,328b,它们可以与一个或多个刚性部分,例如,中间部分328c或“弯头”,连接。

[0095] 现在转向图24,可以采用致动器360,拉动定位器320穿过套筒328,回收取样部分316。致动器360可以包括与转子364连接的手柄362,转子364与定位器320的远端连接(例如,在此实施例中,通过将形成定位器的线缠在其上面进行连接)。定子366可以接收转子364,并包括密封368,允许相对转动,同时维持无菌环境。定子366上面还可以配备连接器,如软管倒钩370,用于连接套筒328。

[0096] 将取样部分316从床318撤回的操作通过采用手柄362转动转子364实现,可以手动操作或自动操作。从而,作为定位器320的软线包裹住转子364,取样部分316撤回到套筒328内(正如上文所述,套筒328可以将取样部分316的远端密封在其内从而保持无菌性)。正如可以了解的那样,这种布置允许维持无菌条件,同时回收取样部分316。

[0097] 另一个替代方法在图25中示出。如图所示,各部件基本上相同,但是,“定子”366与软袋372(例如,通过焊接)连接,软袋372环绕转子364,并维持无菌条件。定子366可以是托架形式,用于转动支撑转子364。回收取样部分316可以通过采用手柄362转动转子364通过软袋372,正如前面描述的实施例中所述,拉动定位器320(通过将线缠绕到转子364上面)实现。

[0098] 参考图26,示出了生物反应器412固定床418取样的取样器400的另一个实施例。在此实施例中,取样部分416与定位器420(可以是此处所示任何定位器)连接。定位器420与帽414可释放地连接,帽414与生物反应器412的端口422连接(例如,通过啮合枢轴422a,构成卡口式组件;参见,例如图4、5和6)。可释放连接可以通过帽414内的相应磁铁414a和定位器420邻近表面上的磁性材料420a(包括铁磁材料)形成的磁耦合建立。在一个实施例中,一旦定位器420位于生物反应器412内,且帽414已经放在其位置,然后,磁铁414a被引入到帽内,形成磁耦合,从而避免干扰定位器420。

[0099] 为了允许帽414相对端口422转动,并且不干扰(即诱导转动)定位器420,连接的取样部分416、定位器420和端口422可以具有配合面。特别是,定位器420可以包括外部突起420b,用于在与磁耦合形成的对应高度与端口422内的配合内部接收器422b对齐。突起420b和接收器422b的截面可以是方形,从而形成防转特征(但是,当然还可以使用其它形状来实现相同的结果)。因此,帽414可以转动拆除,但并不会转动定位器420,后者通过接收器422b和突起420b之间的啮合保持不动。一旦帽414被释放,它可以从端口422拆下来,从而撤回定位器420,从而将取样部分416从生物反应器412撤回。

[0100] 现在,参考图27和28,图中示出了生物反应器512的一个具体示例,包括一个或多个取样器500(在此示例中,示出了两个取样器,但是,正如上文所述,可以提供任何数量的取样器)。生物反应器512包括一个或多个固定床,例如,在所示示例中,包括两个垂直堆放的固定床518a、518b,布置在生物反应器512的外室512a内,可以是图1A所示的螺旋床和此处描述的其它床。还提供内室512b用于循环流体进出固定床,所述流体可以通过连接的搅拌器,例如,位于生物反应器512下室512c内的叶轮521促使流动。流体在固定床中的流动可以是垂直方向,如从上至下或从下至上。固定床亦可布置在内室512b中,而外室512a用于输送流体进出该内室的固定床。

[0101] 鉴于此处所述形式的固定床提供的基本上均匀的条件,在固定床任何部分取样通常都将良好地指示其内任何部分的细胞生长状况。在任何情况下,如图27所示,可以将取样部分516a、516b选择性地定位在固定床的不同位置(例如,所示垂直方向的各种高度或深度处),包括不同的堆叠床518a、518b,如图所示,定位器520b和连接的取样部分516b仅仅是通过床(例如,沿预定通道或隧道)撤回,用于回收或检查。定位器520可以是此处所述实施例中的任何定位器(包括带套筒,未示出),正如此处所述,可以在生物处理之前、期间和之后使用。

[0102] 正如可以了解的那样,所述公开的取样器提供了方便自动化开展此处任何步骤的

唯一机会。例如,参考图29,这可以通过上面所述实现:提供包括生物反应器600和致动器602(例如,电机或机器人装置)的系统,移动(升高或降低)定位器,将取样部分16从固定床18撤回用于开展分析。还可以采用控制器604,例如,可编程逻辑控制器、计算机等,控制致动器602启动,这可以根据任何数量的参数,如自细胞培养操作开始时计算的时间启动。控制器604还可以接收与生物反应器600连接的一个或多个传感器606的输出,所述传感器606检测一个或多个参数,例如,pH、细胞密度等,指示细胞培养操作的状态。当一个或多个参数达到预定水平时,控制器604可以启动相关致动器602,促使定位器撤回取样部分。

[0103] 示例

[0104] 现在,转向图30-37,图中示出了取样器700的示范性使用。在图30中,可以看出,生物反应器702的盖子724包括端口722,端口连接容器或瓶子750形式的隔离或屏障。综合参考图31和32,可以了解的是,瓶子750包括垫片752,软线形式的定位器720可以穿过垫片752,与位于固定床718内的取样器部分716连接(例如,位于固定床两个细胞固定层之间)。垫片752可以构成可拆卸帽或盖子754的一部分,帽或盖子754可以压接(图30)或螺纹连接(图31)到瓶子750上。在瓶子750和端口722之间提供无菌连接756,例如,Quickseal装置,线720延伸通过无菌连接756。

[0105] 当需要从床718采集细胞培养物样品时,定位器或线720可以穿过瓶子750和连接756形成的连续通道,如图33动作箭头A所示。虽然图中示出了手动操作,但是,正如前文所述,也可以采用自动操作。此外,不管是手动或自动,都可以根据生物反应器700的一个或多个传感器的输出,决定撤回取样器716。

[0106] 线720可以一直前移,直到取样器部分716伸到瓶子750内,如图34所示。一旦完全放到瓶子750内,可以断开无菌连接756,若采用Quickseal装置时,则涉及使用刀头C压接和切断连接,从而分离瓶子750,如图36所示(以连接部分756a,756b表示),同时仍然维持无菌条件。然后,可以拆除(例如,通过转动(箭头T))此时分开的连接756的剩余部分756a(图37和38),可能在插入试剂等之后,将瓶子750采用帽758密封,如图39和40所示。然后,瓶子750可用于研究取样器部分716上细胞的生长情况,从而准确表明生物反应器700固定床718内细胞培养的情况。举例来说,研究可以涉及细胞计数、细胞染色评估某些参数(融合、活性……),或提取细胞内病毒。

[0107] 当然,瓶子750的体积应大于其接收的取样器部分716的体积。在某些情况下,瓶子体积和取样器部分716的规格(以细胞在其上生长的表面积而言)之间应保持特定的关系。例如,瓶子750的体积可以是0.5-1.0毫升,取样器部分716的表面积可以是大约1至大约 1.3cm^2 ,更具体地说,根据存在的细胞数量/瓶子单位体积,大约 1.23cm^2 时获得最佳结果。

[0108] 在前述任一实施例中,取样部分16可以仅与生物反应器(未示出)内的固定床18接触,且并不需要插在固定床内或位于固定床内。例如,如图41和42所示,取样部分16可以位于固定床18附近,并与固定床18的表面接触,例如,固定床的侧表面(图41)或上表面(图42),并且与定位器20连接,定位器20同样可以是软线。如上所述,可以提供多个取样部分16,并且它们可以位于固定床18的各个表面上,位于其各层之间,或两者皆可。这种连接可以通过连接器,如弱连接(粘合剂),实现。图43进一步阐明,可以提供保持器16a,将取样部分16保持在固定床18附近。图44说明了上述情况,其中取样部分16构成固定床18的一部分,预先切割或配备多个孔,使分离非常简单。这种预切割取样部分可以位于固定床内的任何

位置,在所示实施例中,预切割取样部分位于固定床顶部附近。床18可以配备一个或多个接收器、标记、缺口、凹口、开孔、空隙、接收部分、指示器、标志、指导等,用于指示分离取样部分16的放置情况。当需要对细胞培养物进行取样时(根据取样部分16的位置,可以在床18内任何位置取样),启动(手动或自动)定位器20,将取样部分从生物反应器撤回。

[0109] 最后,图45示出了生物反应器12,其配备固定床18,所述固定床18包括与定位器20连接的取样部分16,可以通过帽14接触到定位器,帽14遮盖生物反应器盖子24上的端口。该图特别示出了通过生物反应器的一个示范性流型(flow patter),这可能是由于内部搅拌器,如叶轮I造成的。流动布置可以是这样:液体向下(箭头D)流过内室,然后向前(箭头F)向上(箭头U)通过位于内室外侧的固定床18。然后,流动通过内部柱返回(箭头R),在内部柱内,流体接触气体(空气)。正如可以了解的那样,可以采用相同的结构布置,但流动相反。

[0110] 本发明可视为涉及下述任一或全部项目,这些项目可以以任何形式组合,但并不受此限制:

[0111] 1. 一种与细胞培养系统一起使用的装置,包括:

[0112] 结构化固定床,所述结构化固定床包括从细胞培养系统回收细胞样品的可拆卸取样部分。

[0113] 2. 根据项目1所述的装置,其中所述结构化固定床包括彼此相邻的至少两个材料层,可拆卸取样部分至少部分位于所述至少两个材料层之间。

[0114] 3. 根据项目2所述的装置,其中所述至少两个层包括:(1) 细胞固定层,且所述可拆卸取样部分具有与第一细胞固定层接触的第一面及与第二细胞固定层接触的第二面;或(2) 一个细胞固定层和一个隔离层。

[0115] 4. 根据项目1-3任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分包括一根或多根纤维。

[0116] 5. 根据项目1-4任一项所述的装置,其中所述结构化固定床和所述可拆卸取样部分包括非织物材料。

[0117] 6. 根据项目1-5任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分包括材料层。

[0118] 7. 根据项目1-6任一项所述的装置,其中所述结构化固定床包括细胞固定层,且构成可拆卸取样部分的材料层与所述细胞固定层直接接触。

[0119] 8. 根据项目1-7任一项所述的装置,进一步包括通过连接器与所述可拆卸取样部分机械连接的定位器。

[0120] 9. 根据项目1-8任一项所述的装置,其中所述结构化固定床包括多个可拆卸取样部分。

[0121] 10. 根据项目1-9任一项所述的装置,其中所述结构化固定床包括辊床或螺旋床。

[0122] 11. 根据项目1-10任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分与结构化固定床相邻。

[0123] 12. 根据项目1-11任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。

[0124] 13. 一种生物反应器,包括项目1-12任一项所述的装置。

[0125] 14. 根据项目13所述的生物反应器,包括接收带向上流体流的结构化固定床的外室,及将流体流返回到包括搅拌器的生物反应器的下部的内室。

- [0126] 15. 一种与生长细胞培养物的生物反应器一起使用的装置, 包括:
- [0127] 固定床, 所述固定床包括从细胞培养物中回收细胞样品、包括一根或多根纤维的可拆卸取样部分。
- [0128] 16. 根据项目15所述的装置, 其中所述固定床包括非结构化固定床。
- [0129] 17. 根据项目15所述的装置, 其中所述固定床包括结构化固定床。
- [0130] 18. 根据项目15-17任一项所述的装置, 其中所述可拆卸取样部分包括非织物材料。
- [0131] 19. 根据项目15-18任一项所述的装置, 其中所述可拆卸取样部分位于所述结构化固定床的两个层之间。
- [0132] 20. 根据项目15-19任一项所述的装置, 其中所述可拆卸取样部分与所述固定床相邻。
- [0133] 21. 根据项目15-20任一项所述的装置, 其中所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。
- [0134] 22. 一种细胞培养物取样装置, 包括:
- [0135] 生物反应器, 所述生物反应器包括含可拆卸取样部分的结构化固定床; 及
- [0136] 与所述生物反应器相连的取样器, 用于从所述结构化固定床回收所述可拆卸取样部分。
- [0137] 23. 根据项目22所述的装置, 其中所述可拆卸取样部分包括定位器, 所述定位器适用于将取样部分定位在所述结构化固定床内, 并可以通过生物反应器内的端口接触到所述定位器。
- [0138] 24. 根据项目23所述的装置, 进一步包括通过可释放连接与所述端口连接的支撑件, 例如, 包括位于所述支撑件上的槽及位于所述端口上的杆的卡口式组件, 螺纹连接, 或者可释放的闩, 所述支撑件与所述定位器连接。
- [0139] 25. 根据项目24所述的装置, 其中所述支撑件固定到定位器, 或与定位器可释放地连接, 例如, 通过挠性部分与部分定位器可释放地啮合, 一起轴向移动, 允许支撑件转动, 但定位器不转动。
- [0140] 26. 根据项目24所述的装置, 其中所述支撑件包括弱连接, 用于将所述支撑件分成多个部分, 用于拆下所述可拆卸取样部分。
- [0141] 27. 根据项目22-26任一项所述的装置, 其中所述取样器包括刀头, 用于形成所述结构化固定床的所述可拆卸取样部分。
- [0142] 28. 根据项目22-37任一项所述的装置, 其中所述取样器包括凹槽, 所述凹槽与和端口连接的锁销啮合, 引导取样器到其位置。
- [0143] 29. 根据项目22-28任一项所述的装置, 进一步包括一容器, 用于在所述可拆卸取样部分从生物反应器拆下来时维持其无菌条件。
- [0144] 30. 根据项目29所述的装置, 其中所述容器通过无菌连接与生物反应器连接, 从而在所述容器且包括取样器定义的室内维持无菌条件, 并且维持生物反应器的无菌条件。
- [0145] 31. 根据项目29或项目30所述的装置, 其中所述容器包括垫片, 用于接收与可拆卸取样部分连接的连接器的。
- [0146] 32. 根据项目29-31任一项所述的装置, 其中所述容器包括软套筒。

- [0147] 33. 根据项目32所述的装置,其中所述软套筒与刚性弯头连接。
- [0148] 34. 根据项目22-33任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分包括与所述可拆卸取样部分连接的定位器,所述定位器与致动器连接,用于将所述可拆卸取样部分从所述结构化固定床撤回。
- [0149] 35. 根据项目34所述的装置,其中所述致动器包括定子和转子。
- [0150] 36. 根据项目34或项目35所述的装置,其中所述致动器与套筒连接,用于接收与取样部分连接的定位器。
- [0151] 37. 根据项目35或项目36所述的装置,其中所述定子包括环绕所述转子的软袋。
- [0152] 38. 根据项目35、项目36或项目37所述的装置,其中所述定子包括支撑所述转子的托架。
- [0153] 39. 根据项目34-38任一项所述的装置,进一步包括用于控制所述致动器的控制器。
- [0154] 40. 根据项目39所述的装置,其中所述控制器适用于接收与所述生物反应器连接的至少一个传感器的输出信号。
- [0155] 41. 根据项目22-40任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分与定位器连接,与用于生物反应器的端口的帽构成可释放连接。
- [0156] 42. 根据项目41所述的装置,其中所述可释放连接包括磁性耦合。
- [0157] 43. 根据项目41所述的装置,其中所述端口包括接收器,用于接收所述定位器的突起,防止相对转动。
- [0158] 44. 根据项目22-43任一项所述的装置,其中所述结构化固定床包括螺旋床。
- [0159] 45. 根据项目22-43任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分与结构化固定床相邻。
- [0160] 46. 根据项目22-43任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。
- [0161] 47. 一种细胞培养物取样装置,包括:
- [0162] 生物反应器,所述生物反应器包括含可拆卸取样部分的床;及
- [0163] 与所述生物反应器相连的取样器,用于从所述床回收所述可拆卸取样部分,所述取样器包括与所述可拆卸取样部分可释放连接的定位器。
- [0164] 48. 根据项目47所述的装置,其中所述定位器通过夹子与所述可拆卸取样部分可释放地连接。
- [0165] 49. 根据项目47-48任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分位于结构化固定床内或其附近。
- [0166] 50. 根据项目47-48任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。
- [0167] 51. 一种带端口生物反应器中床上细胞培养物取样装置,包括:
- [0168] 与所述生物反应器连接的取样器,用于通过端口回收所述床的取样部分,所述取样器包括致动器,用于从床撤回所述取样部分。
- [0169] 52. 根据项目51所述的装置,其中所述致动器与容器连接,用于接收与取样部分连接的定位器。

- [0170] 53. 根据项目51或项目52所述的装置,其中所述致动器包括定子和转子。
- [0171] 54. 根据项目53所述的装置,其中所述定子包括环绕所述转子的软袋。
- [0172] 55. 根据项目53或项目54所述的装置,其中所述定子包括支撑所述转子的托架。
- [0173] 56. 根据项目51-55任一项所述的装置,进一步包括用于控制所述致动器的控制器。
- [0174] 57. 根据项目56所述的装置,其中所述控制器适用于接收与所述生物反应器连接的至少一个传感器的输出信号。
- [0175] 58. 根据项目51-57任一项所述的装置,其中所述床包括至少有两个层的结构化固定床,所述取样部分包括位于所述至少两个层之间的材料层。
- [0176] 59. 根据项目51-57任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分位于结构化固定床内或其附近。
- [0177] 60. 根据项目51-57任一项所述的装置,其中所述可拆卸取样部分是所述结构化固定床的穿孔部分或预切割部分。
- [0178] 61. 一种含结构化固定床的生物反应器中细胞培养物的取样方法,包括:
- [0179] 从所述生物反应器的所述结构化固定床回收可拆卸取样部分。
- [0180] 62. 根据项目61所述的方法,其中所述结构化固定床包括至少两个层,所述方法包括在回收步骤之前将可拆卸取样部分的至少一部分置于所述至少两个层之间。
- [0181] 63. 根据项目61或项目62所述的方法,其中所述回收步骤包括将与可拆卸取样部分连接的定位器从生物反应器撤回,直到所述可拆卸取样部分被接收在通过无菌连接器与所述生物反应器连接的容器内。
- [0182] 64. 根据项目63所述的方法,其中所述撤回步骤包括采用致动器,所述致动器通过基于生物反应器感测条件的控制器控制。
- [0183] 65. 根据项目61-64任一项所述的方法,进一步包括对从可拆卸取样部分上取下来的细胞进行计数的步骤。
- [0184] 66. 根据项目61-64任一项所述的方法,进一步包括对所述细胞进行染色的步骤。
- [0185] 67. 根据项目61-66任一项所述的方法,进一步包括对从可拆卸取样部分上取下来的细胞进行细胞内病毒提取的步骤。
- [0186] 68. 一种将取样部分插入到具有两层或更多层的固定床内的方法,包括:
- [0187] 将所述取样部分定位在所述固定床的两个层或多个层内或其附近。
- [0188] 69. 一种制造固定床的方法,其中所述固定床包括一个或多个取样部分,所述方法包括引导所述取样部分与所述固定床其它部分分离的措施。
- [0189] 70. 根据项目69所述的方法,进一步包括对所述床进行打孔或预切割,从而形成一个或多个取样部分的步骤。
- [0190] 71. 根据项目69所述的方法,进一步包括在所述一个或多个取样部分上面培养细胞的步骤。
- [0191] 此处所述下述术语具有以下含义:
- [0192] 除非上下文清楚表明,否则此处所述的“一”、“一个”及“所述”指的是单数和复数指代。举例来说,“一个室”指的是一个或多个室。
- [0193] 谈到可测量值,例如参数、数量、时距等时使用的“大约”、“基本上”或“近似”指的

是包括规定值 $\pm 20\%$ 或以下的变化,优选 $\pm 10\%$ 或以下,更优选 $\pm 5\%$ 或以下,甚至更优选 $\pm 1\%$ 或以下,及更优选 $\pm 0.1\%$ 或以下,这些范围内的所述变化适合在本发明中执行。但是,应该理解的是,修饰语“大约”所指示的数值本身也是特别公开的。

[0194] 此处所述“包括”、“包含”、“组成”是同义词,是包含式或开放式词语,规定存在该词语后紧跟的要素(例如,组分),且并不排除或排斥本领域熟悉的或公开的其它的、未提出的组分、特征、元素、元件、步骤。

[0195] 虽然此处示出和描述了本发明的优选实施例,但是,对本领域技术人员来说,显而易见的是,这些实施例仅仅是作为示例。本领域技术人员目前可以想到的众多变形、改变以及替代均不超出本发明。例如,虽然生物反应器以垂直方向示出,但是,它可以采用任何方向。应当了解的是,在本发明的实践中可采用此处所述本发明实施例的各种替换。所附权利要求旨在限定适用法律下本发明的保护范围,且藉此应涵盖这些权利要求及其等同变换的范围内的方法和结构。

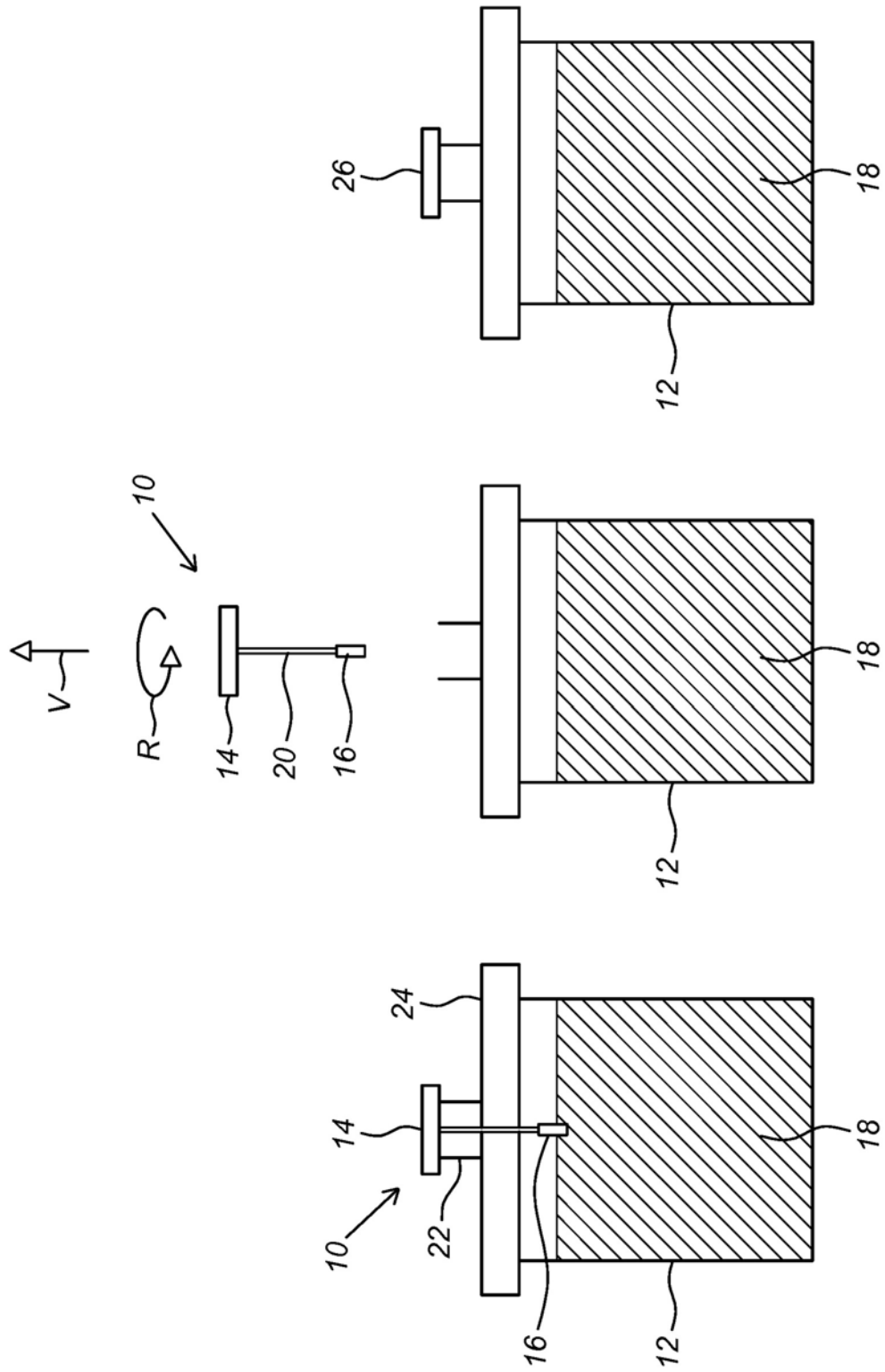


图1

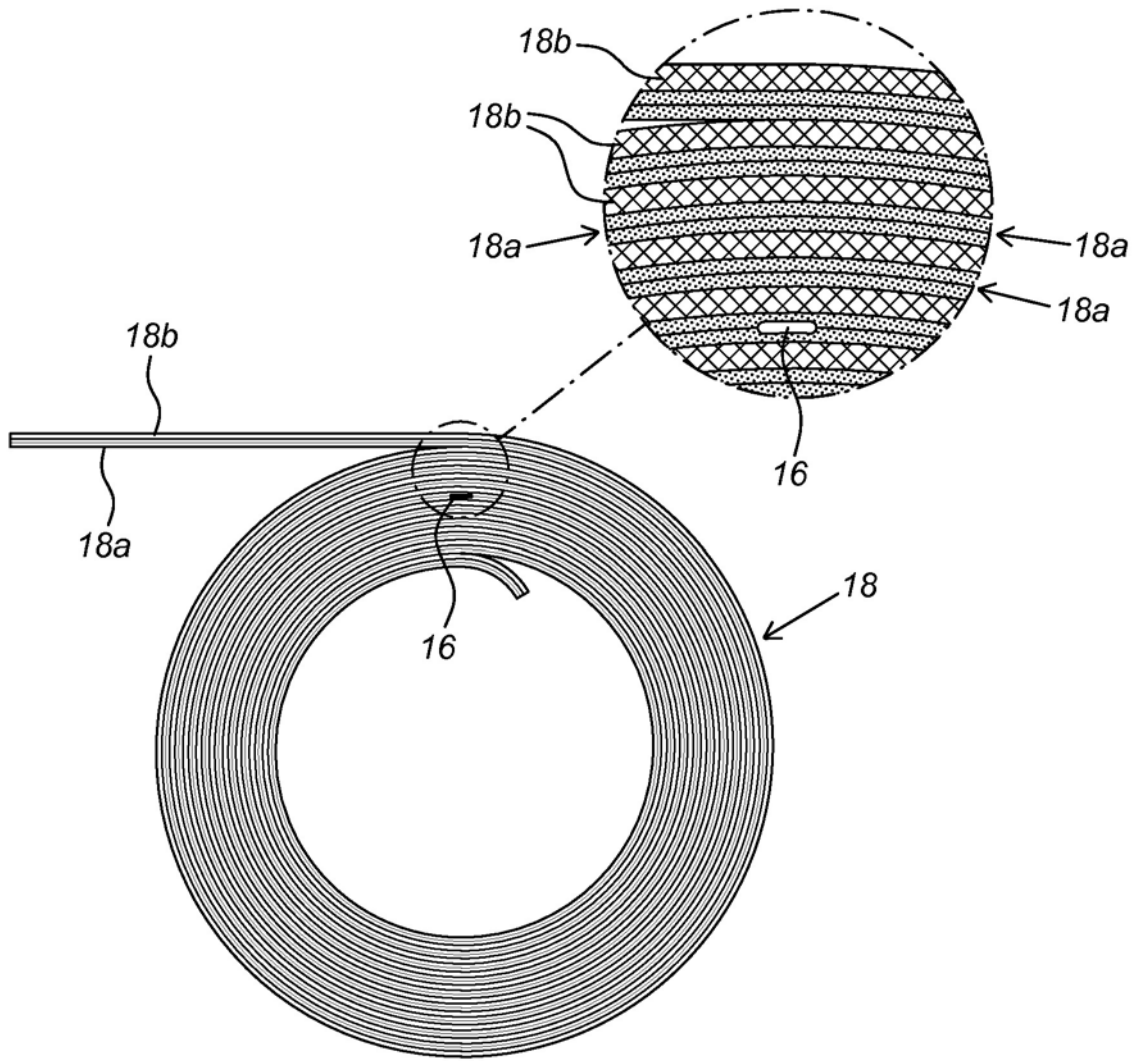


图1A

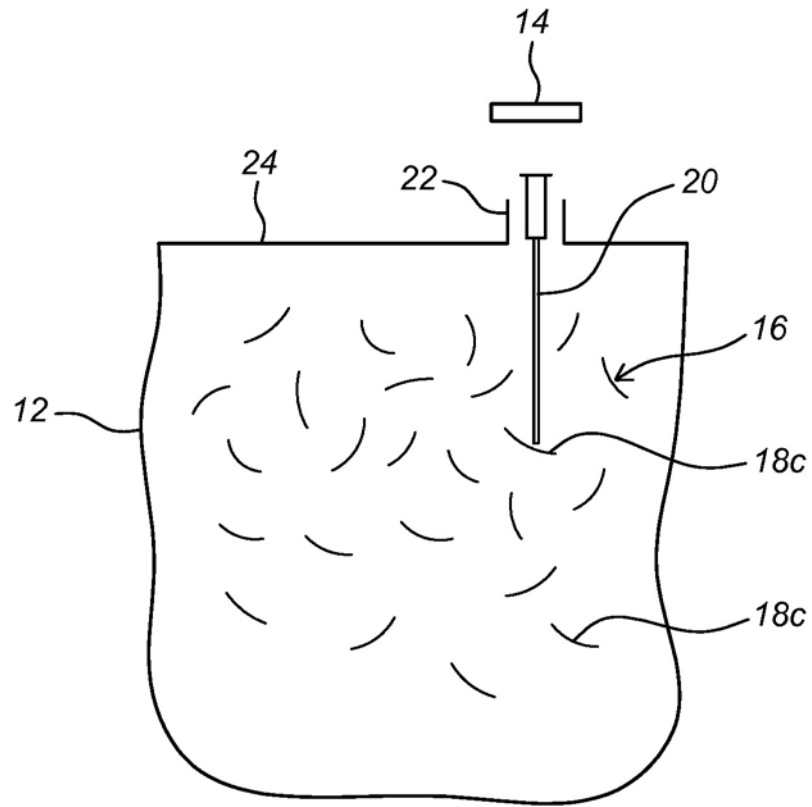


图1B

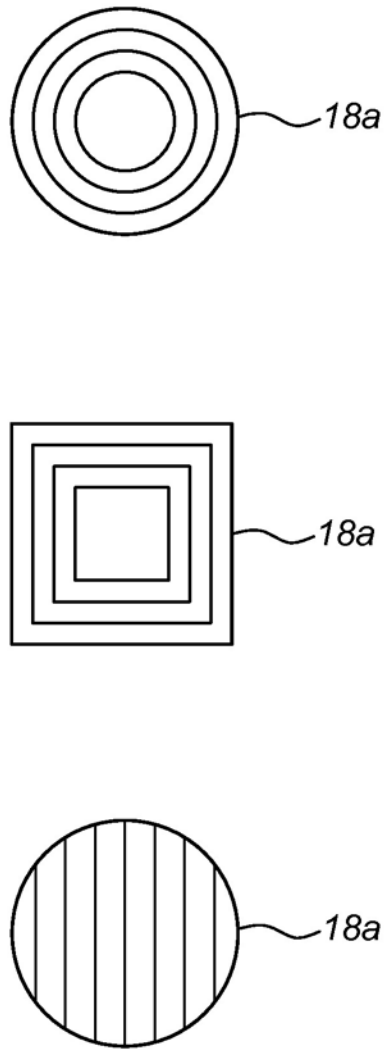


图1C

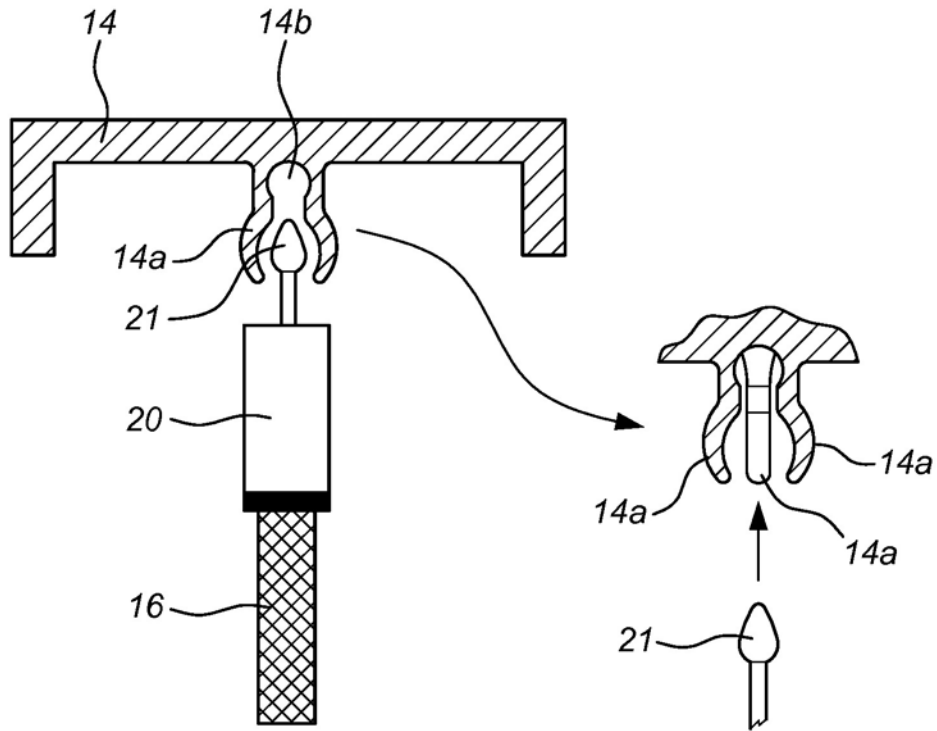


图1D

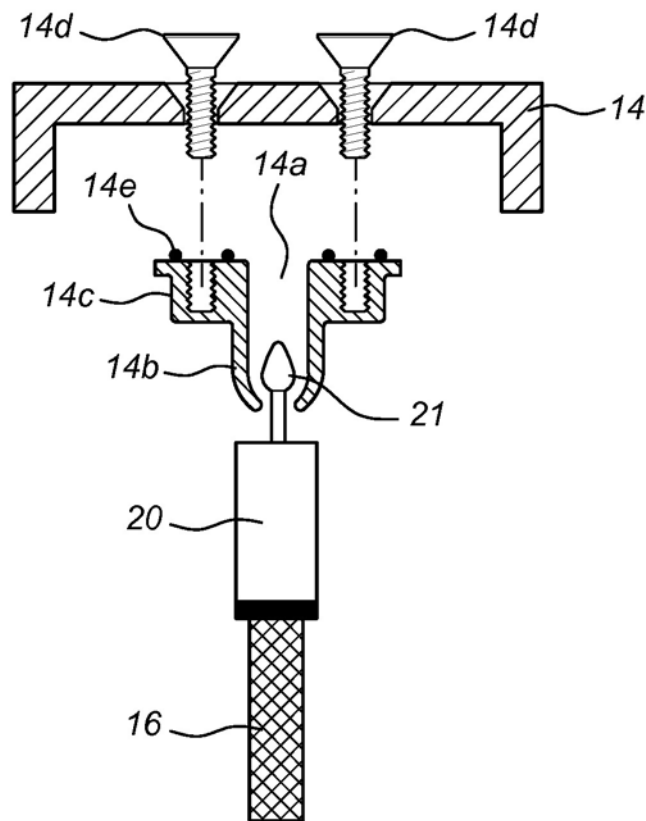


图1E

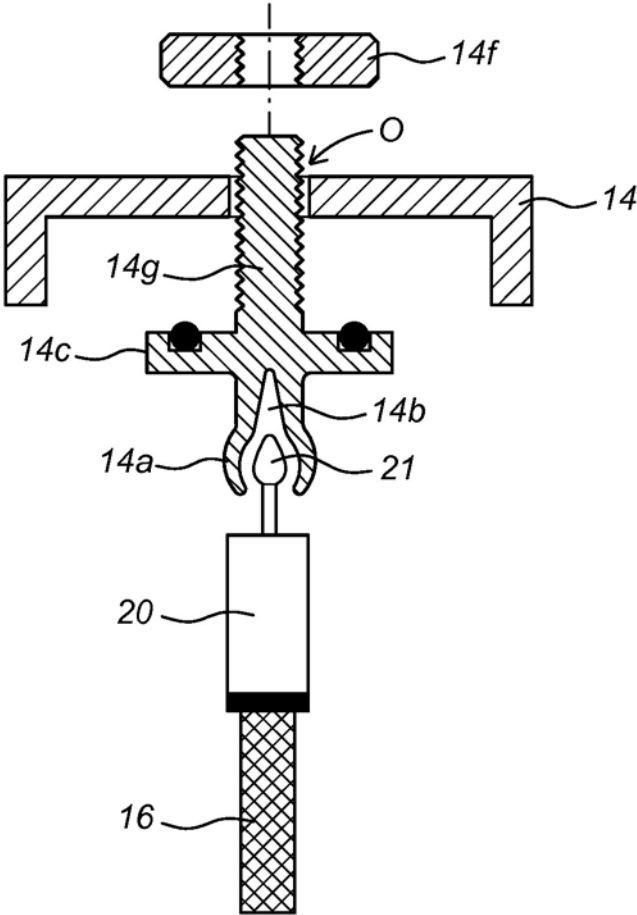


图1F

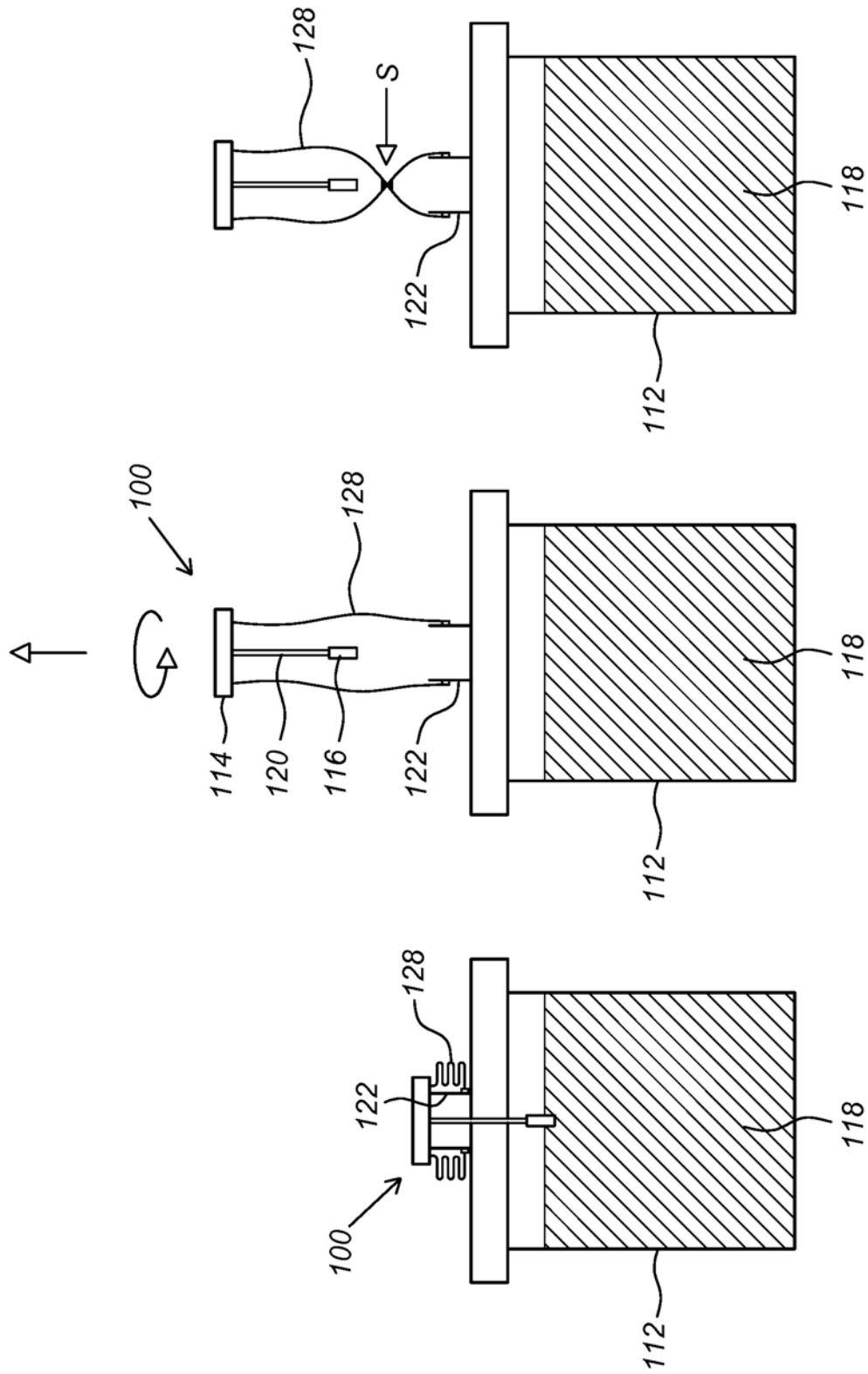


图2

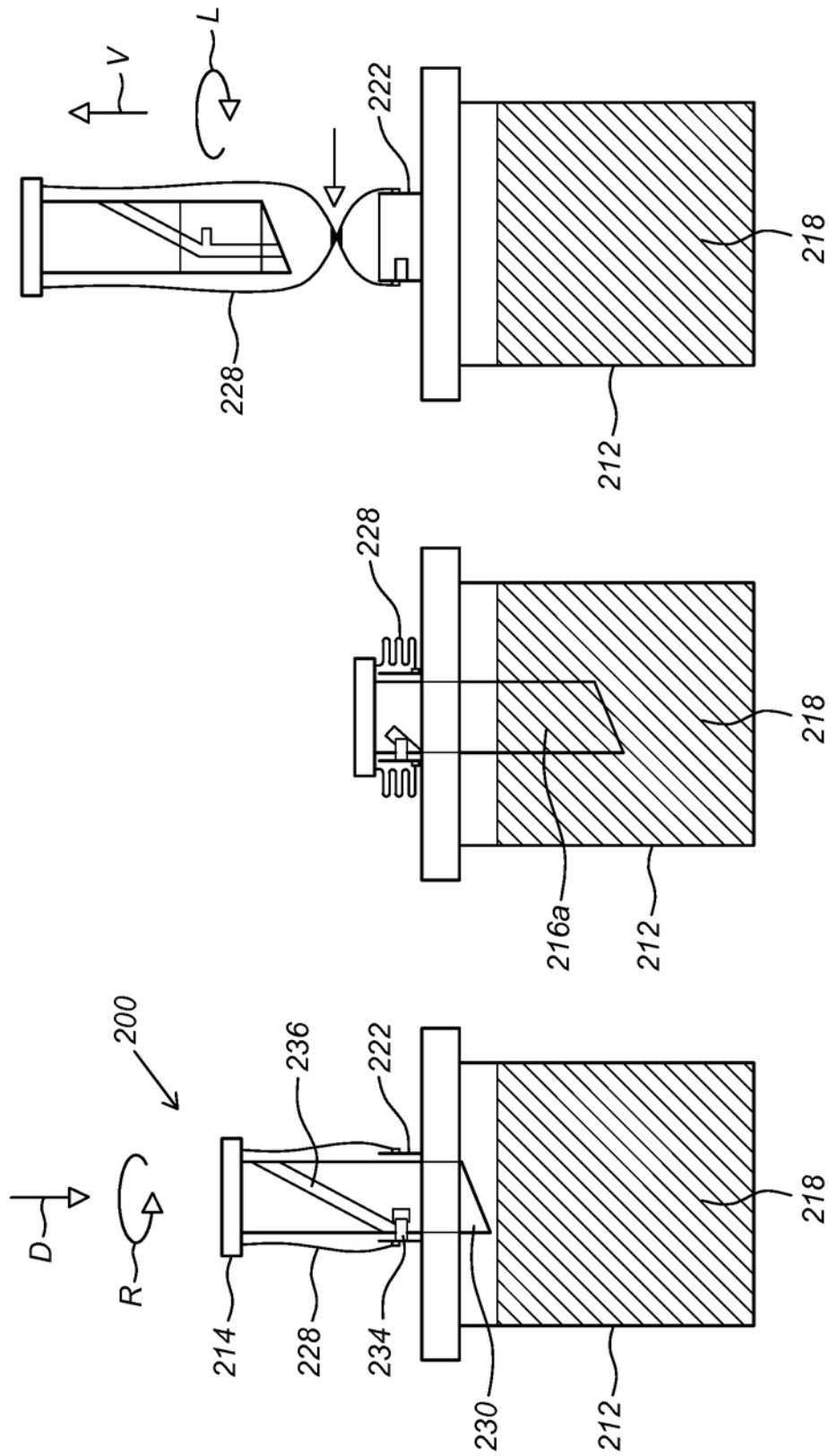


图3

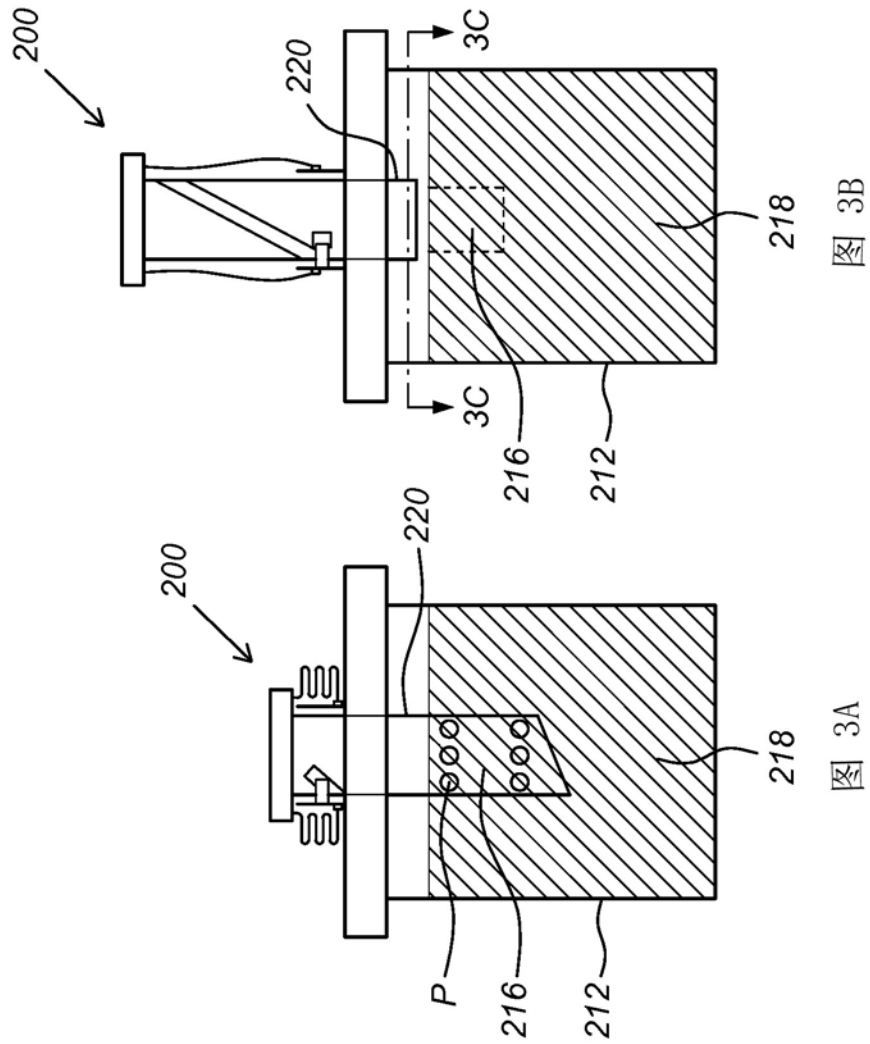


图 3B

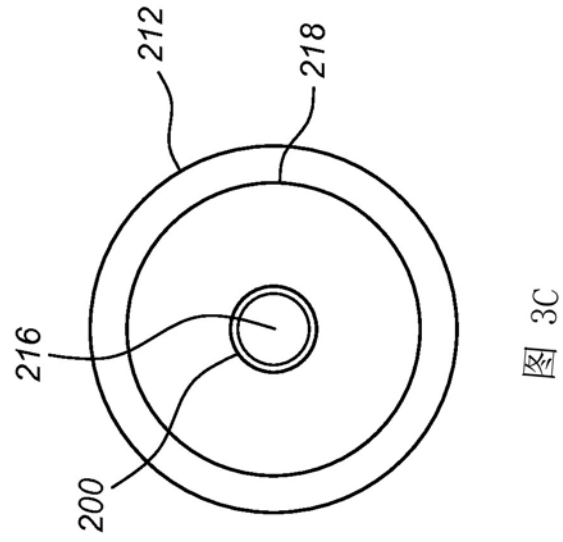


图 3C

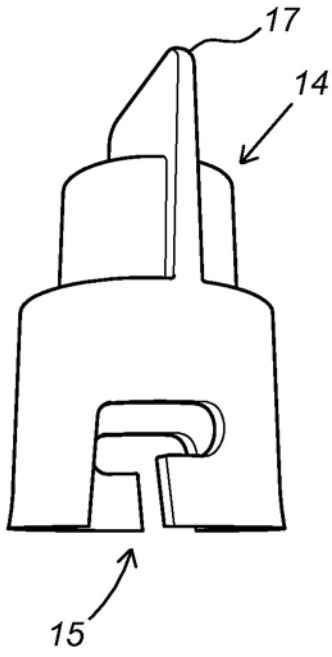


图 4

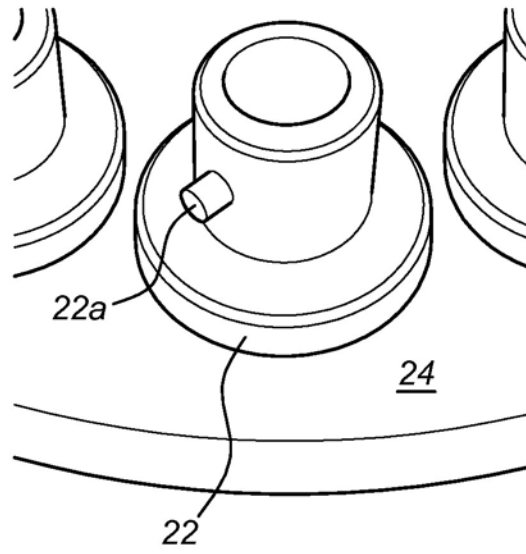


图 5

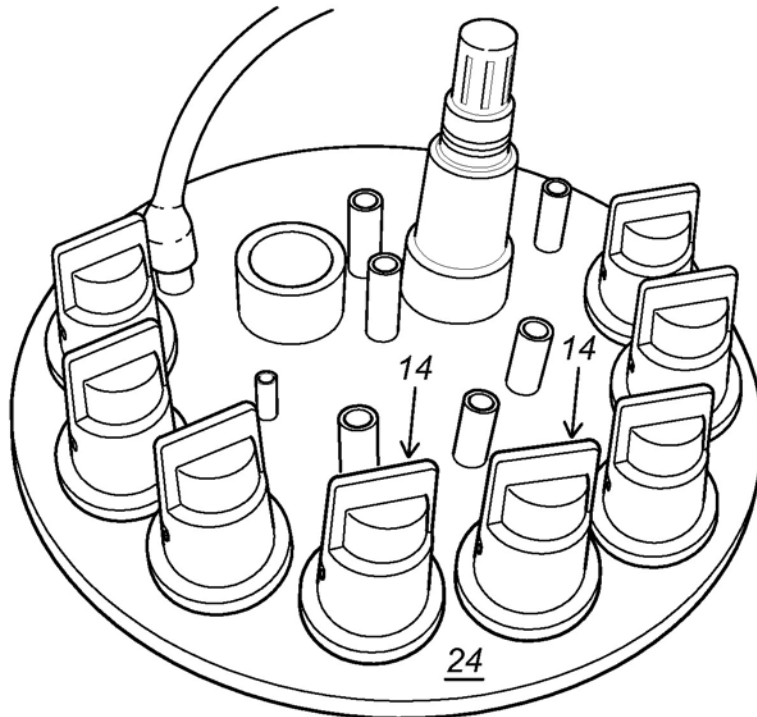


图 6

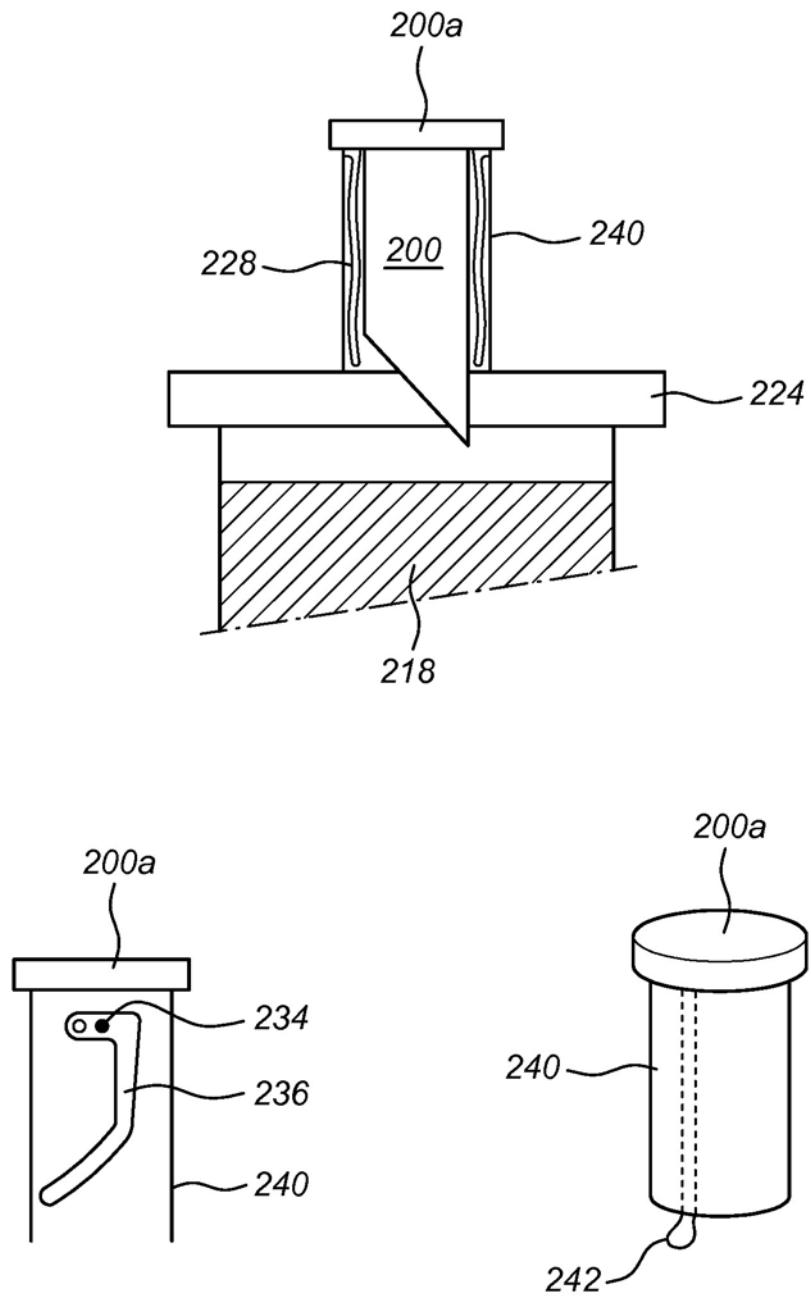


图7

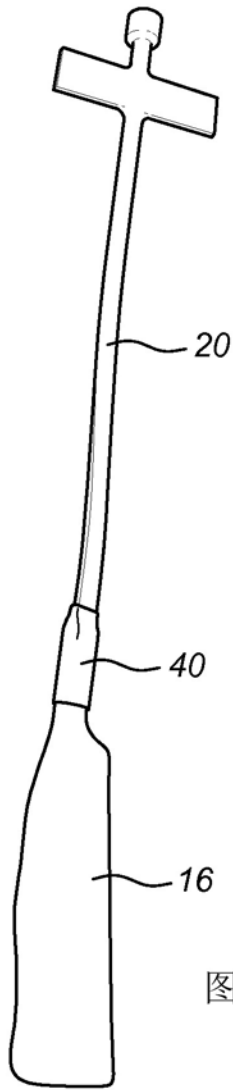


图 8

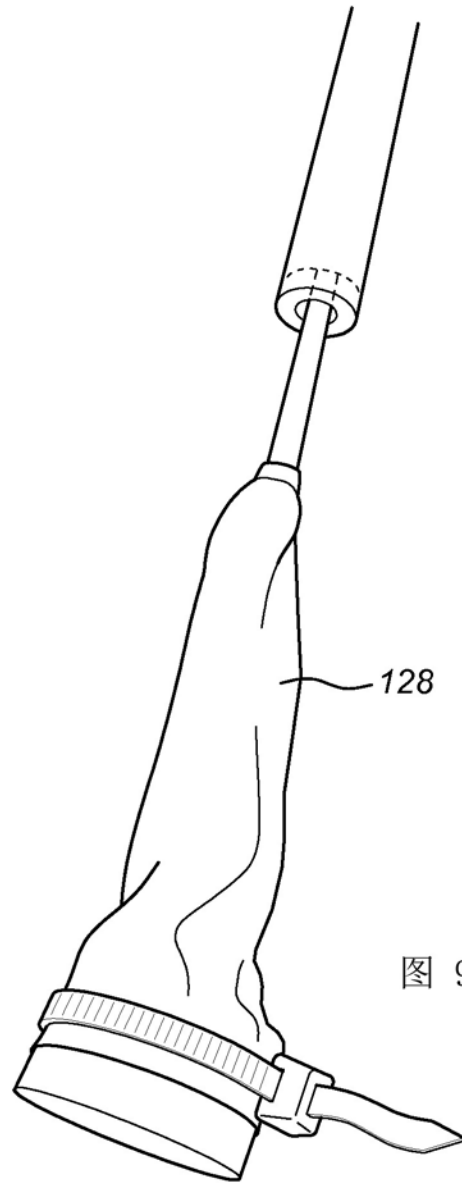


图 9

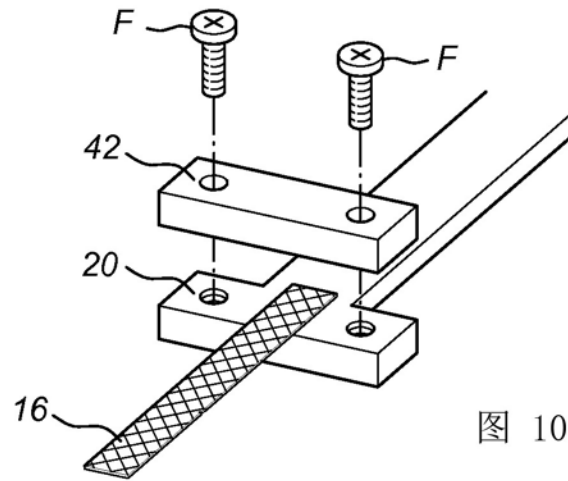


图 10

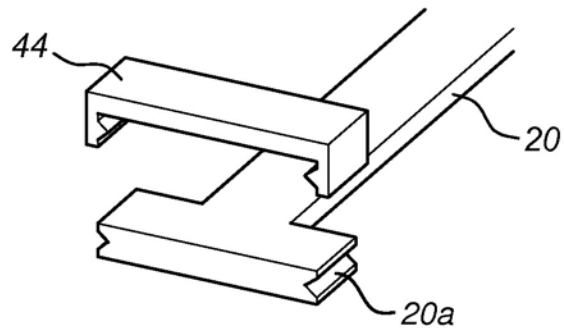


图 11

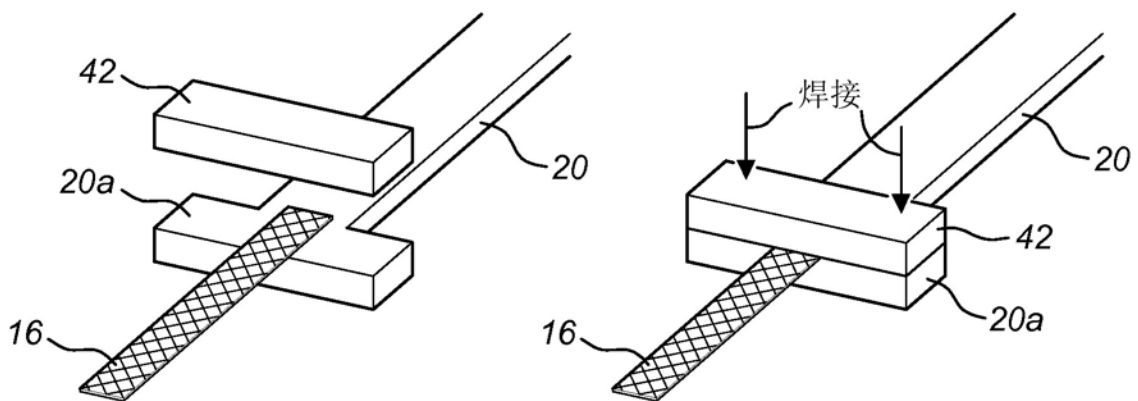
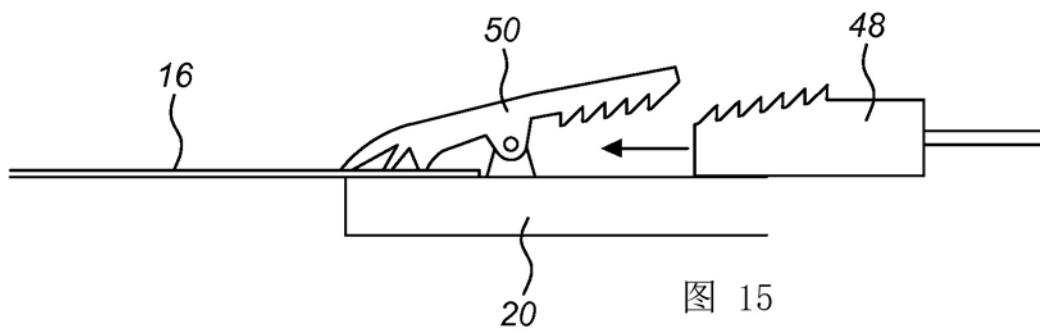
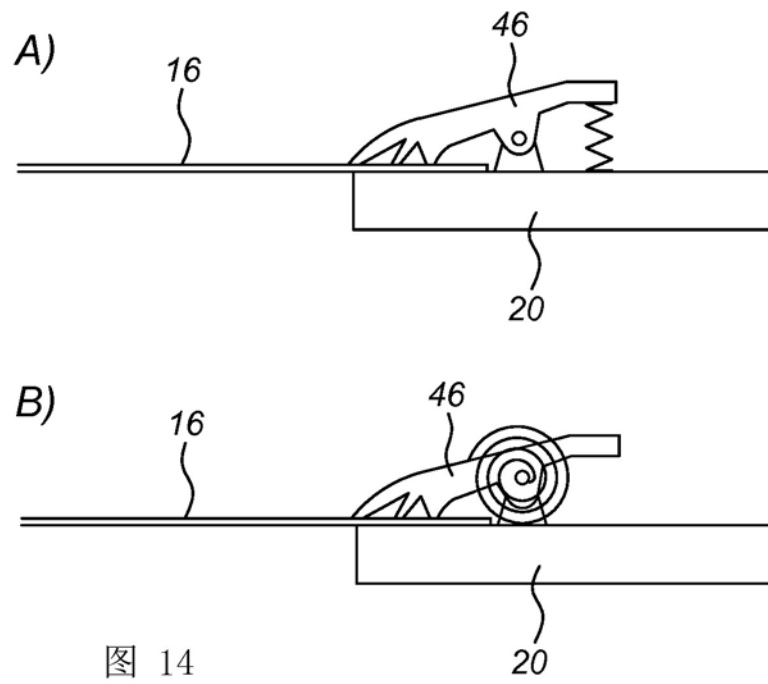
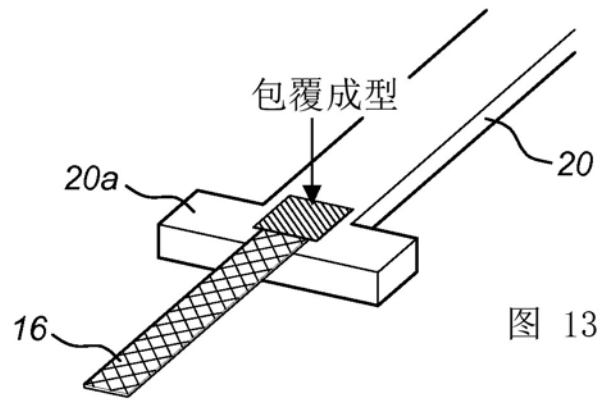


图 12



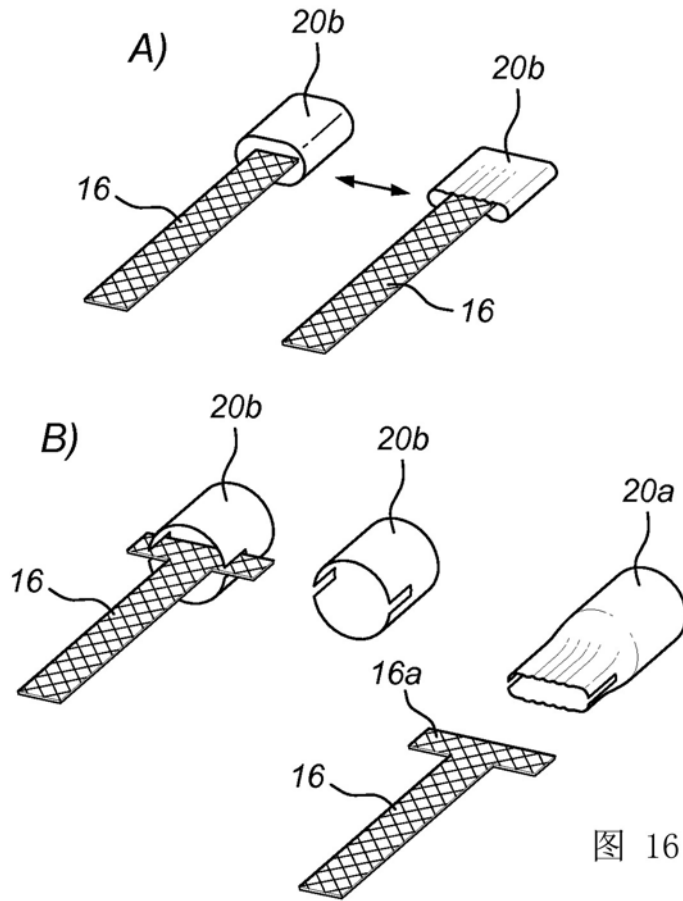


图 16

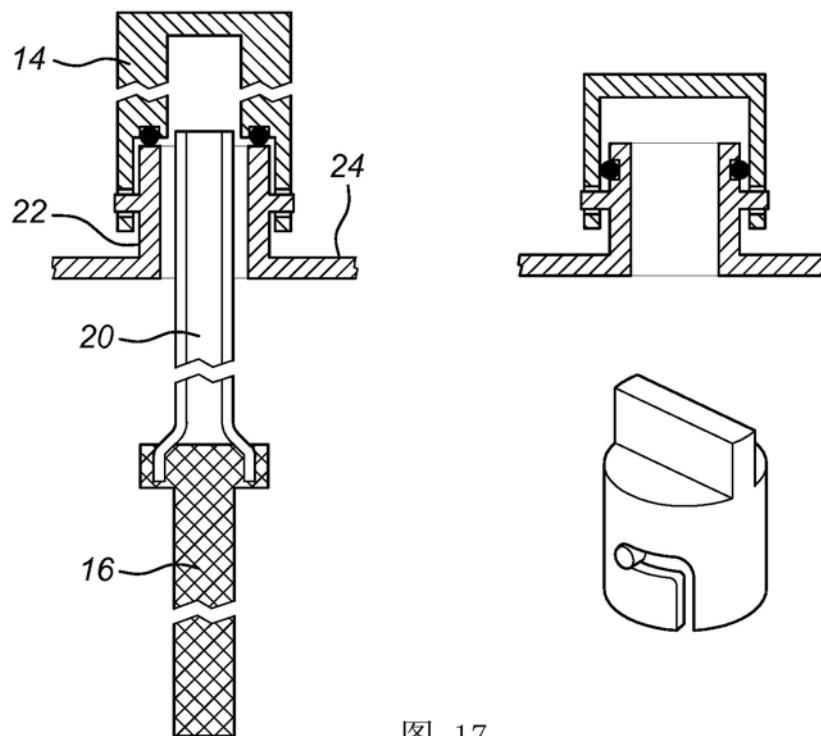


图 17

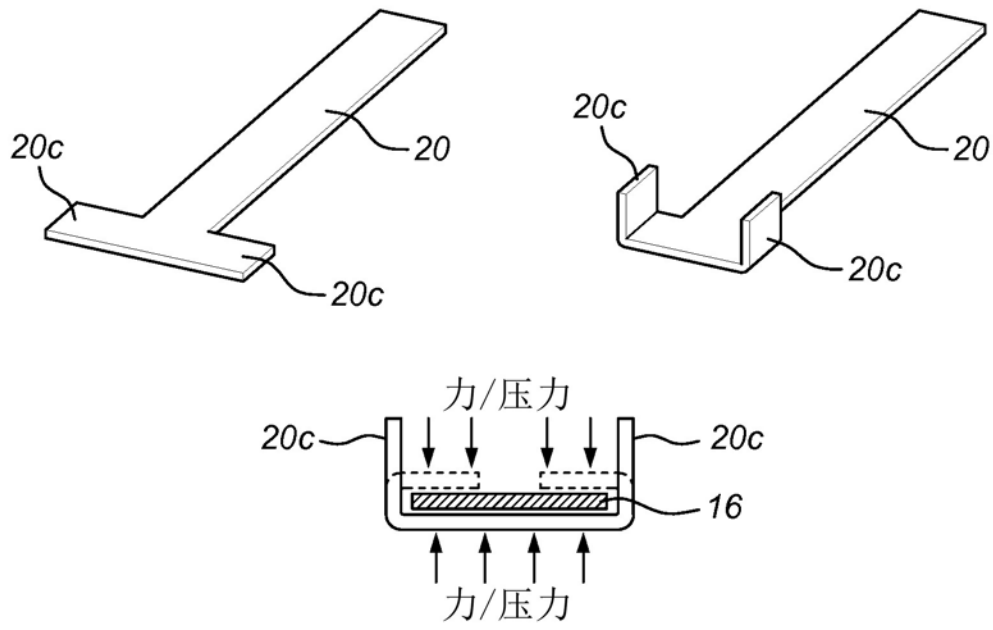


图 18

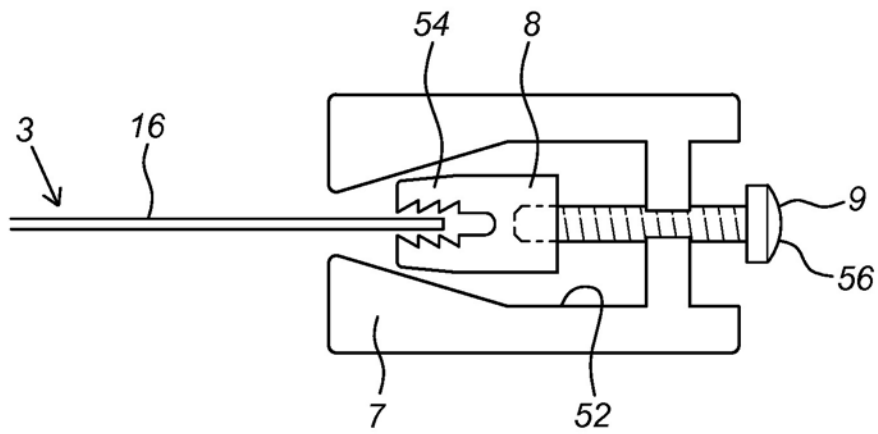


图 19

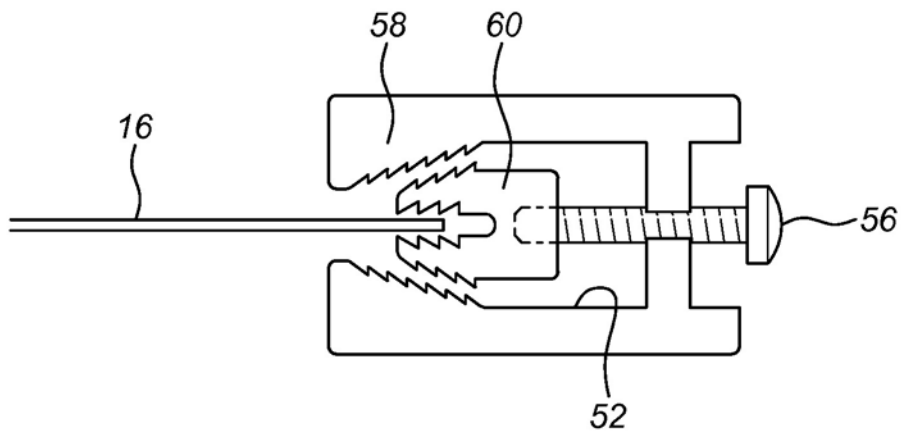


图 20

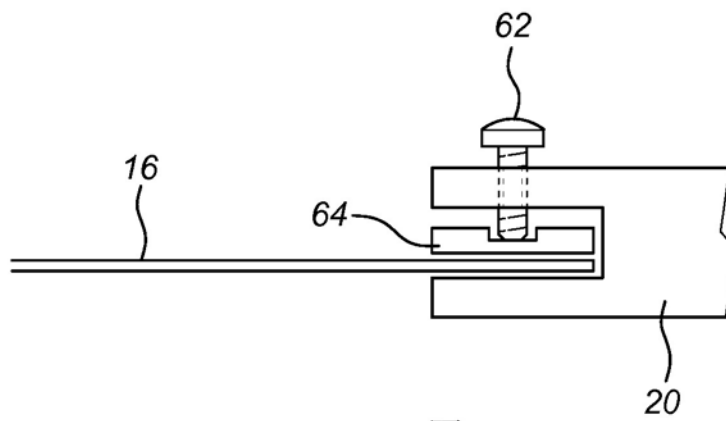


图 21

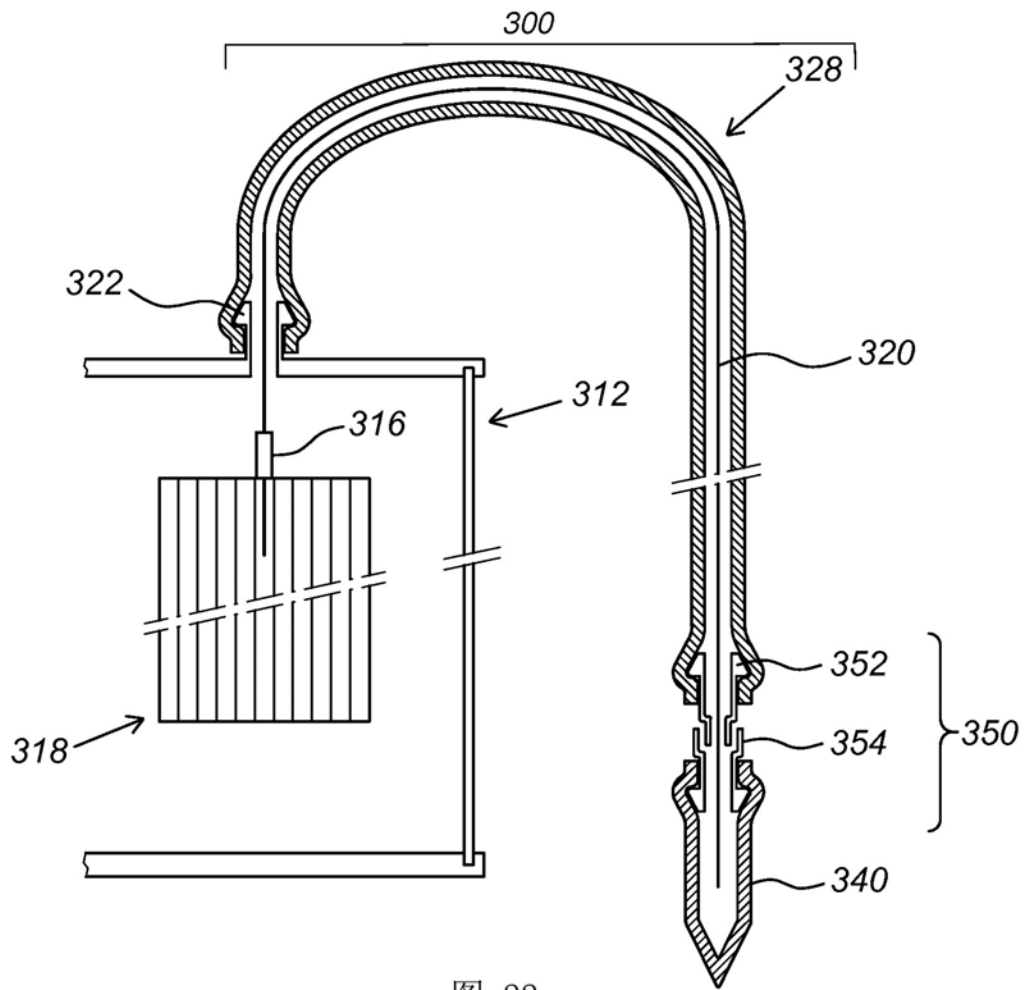


图 22

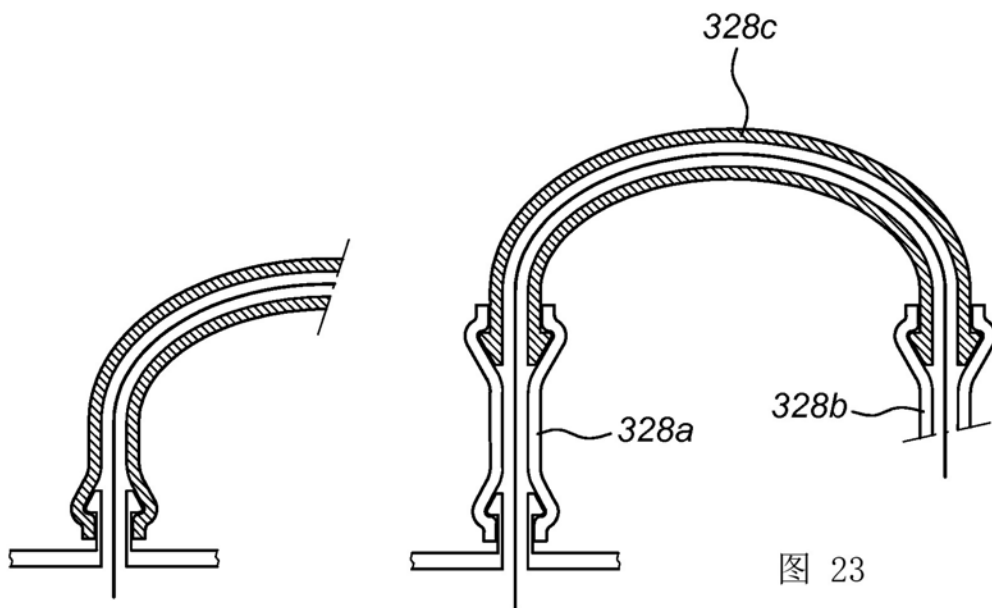
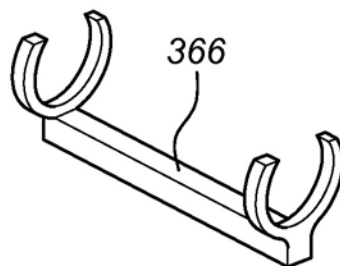
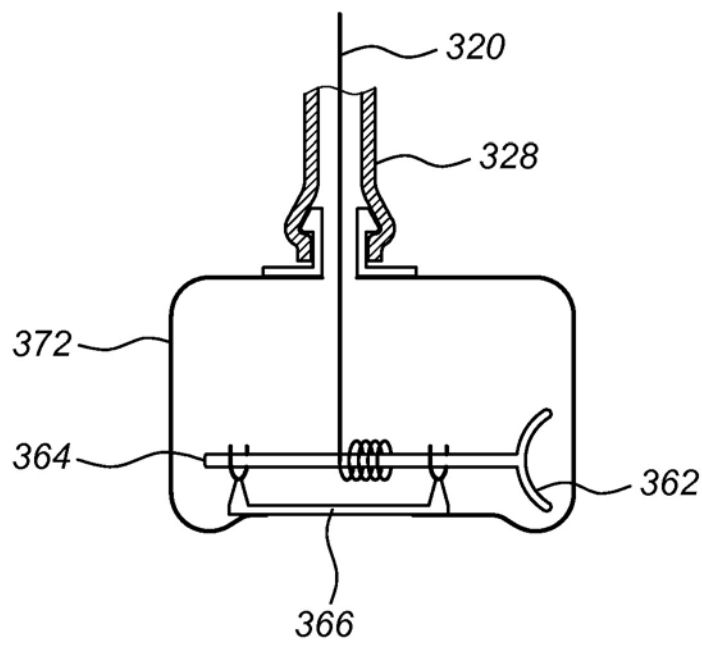
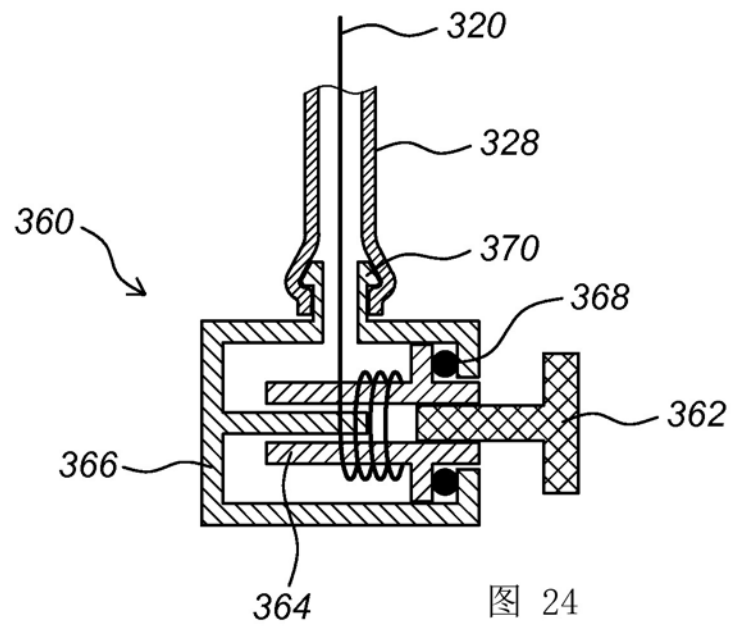


图 23



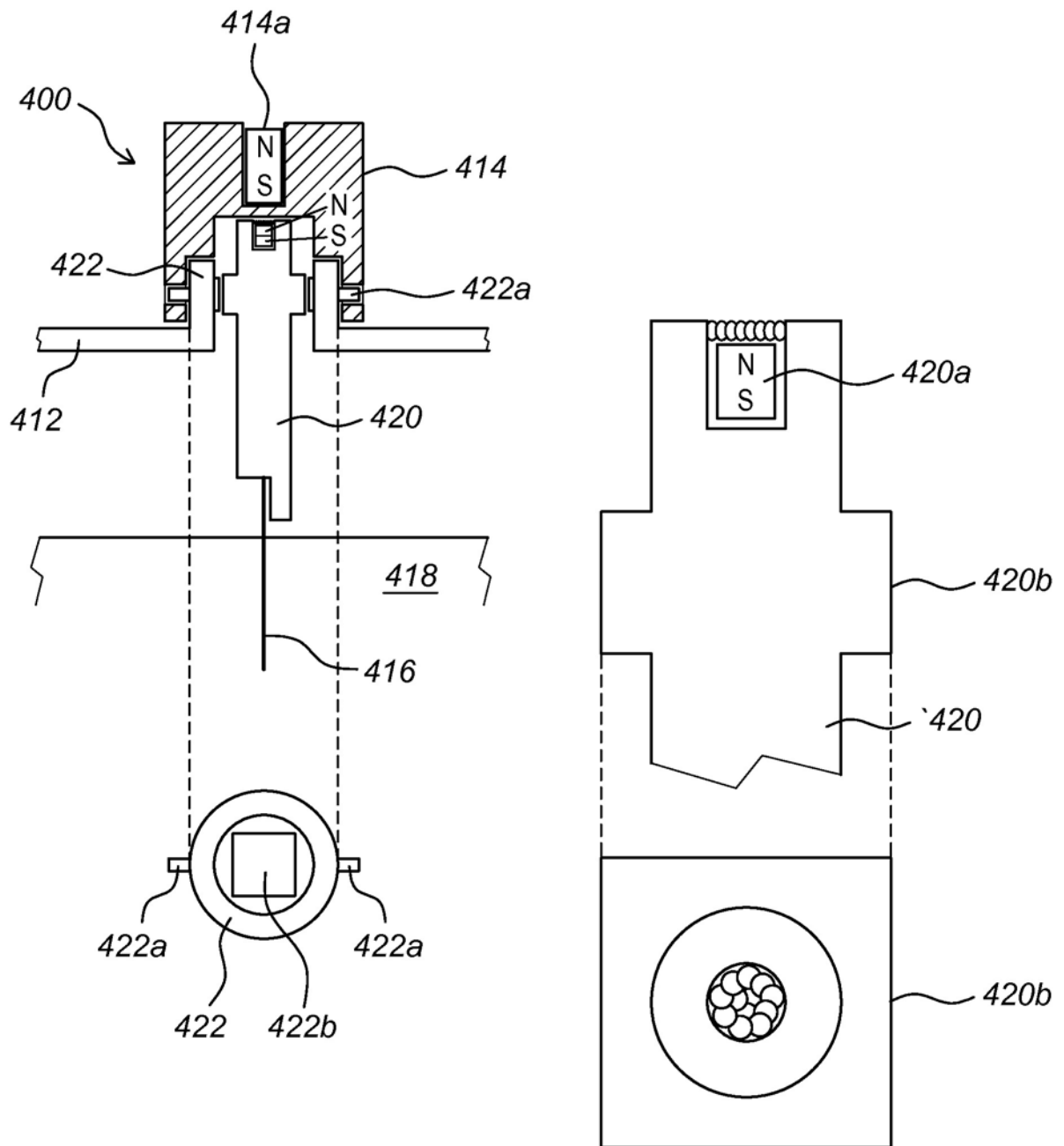
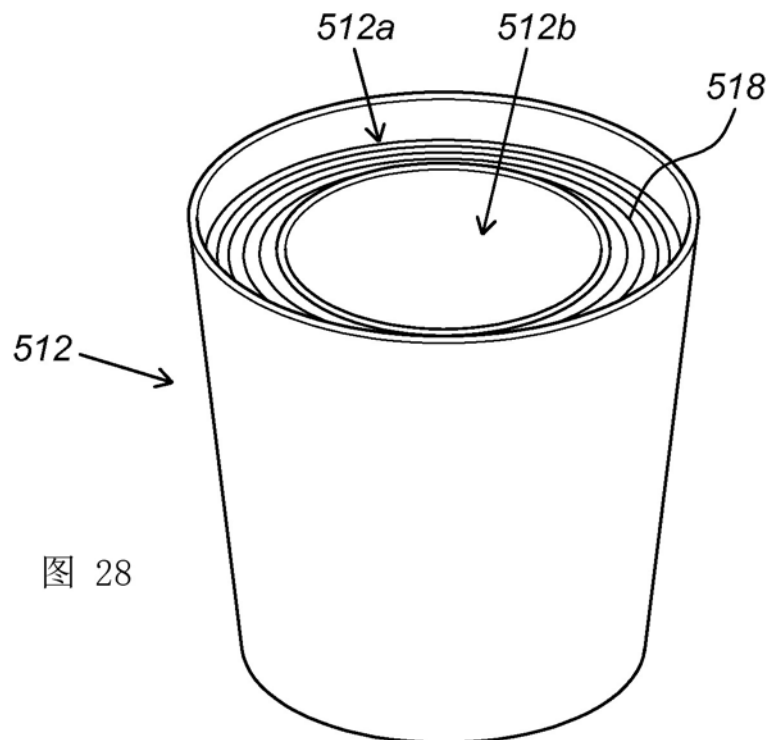
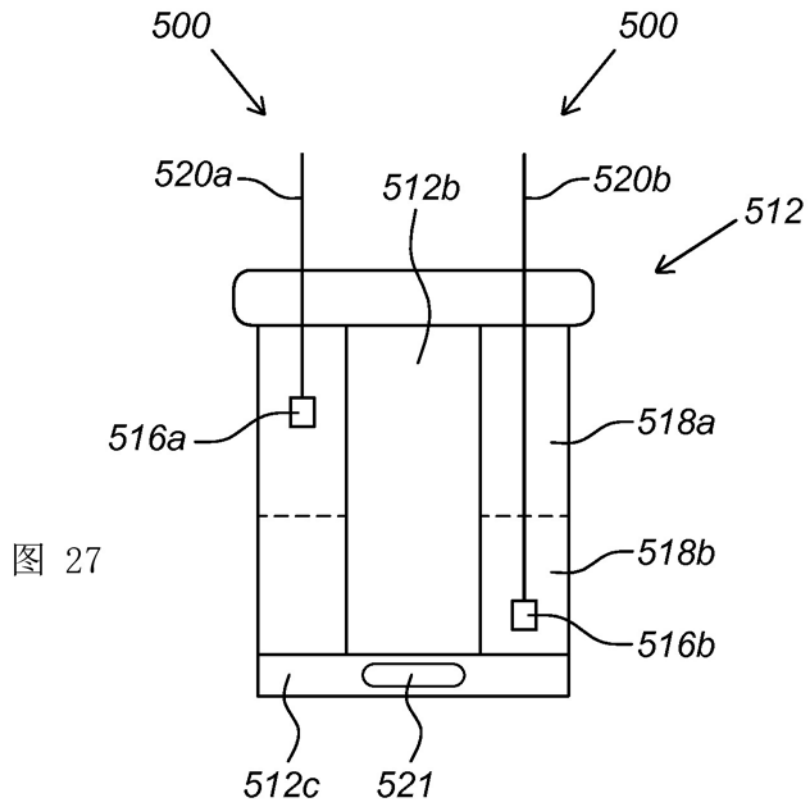


图26



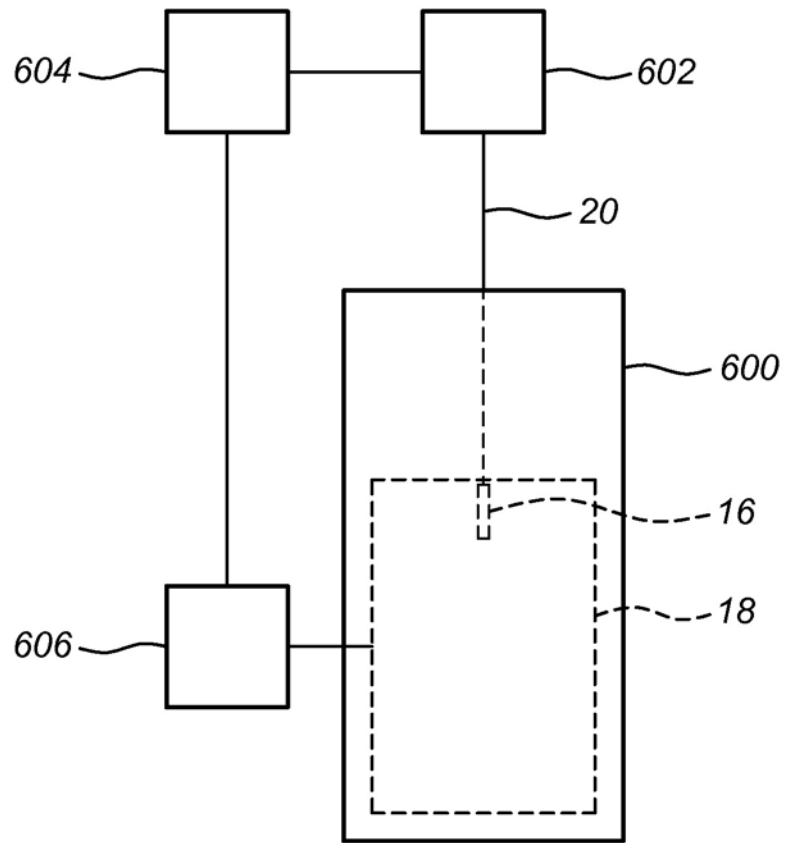


图29

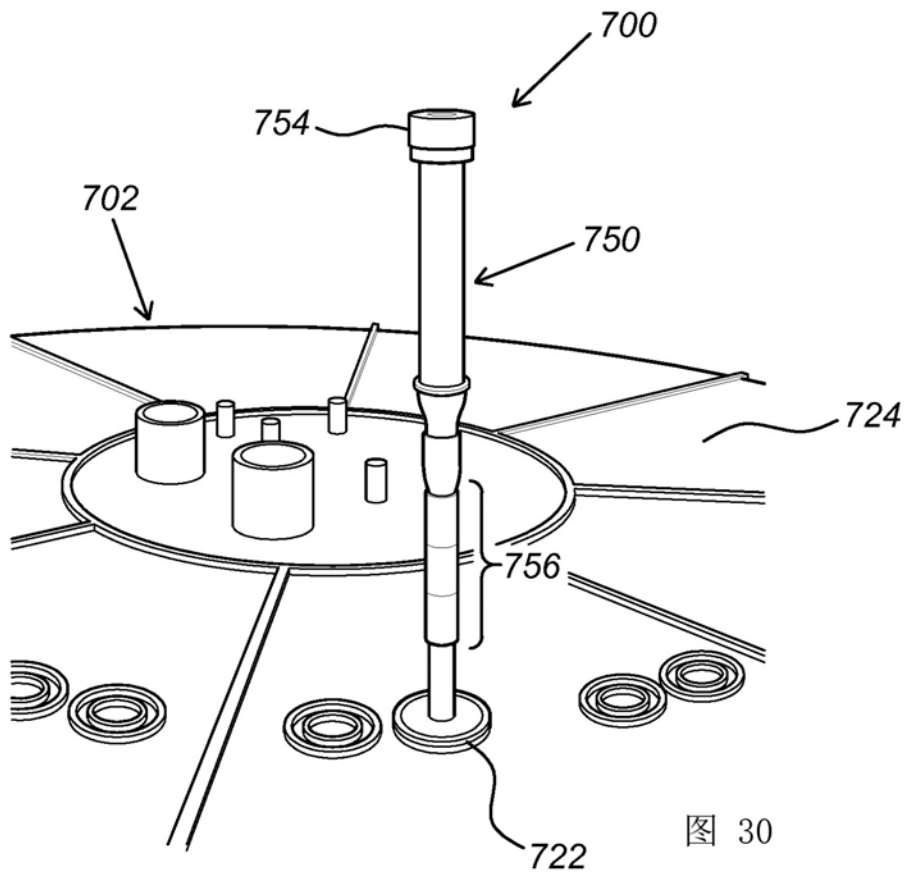


图 30

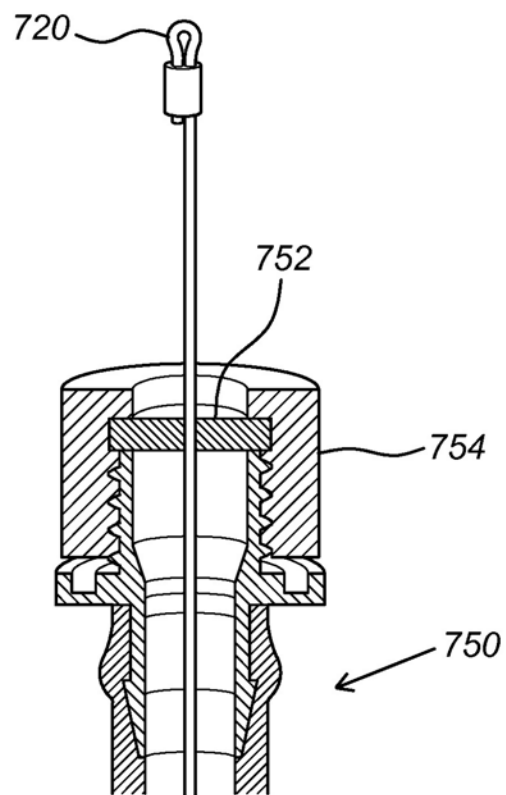


图 31

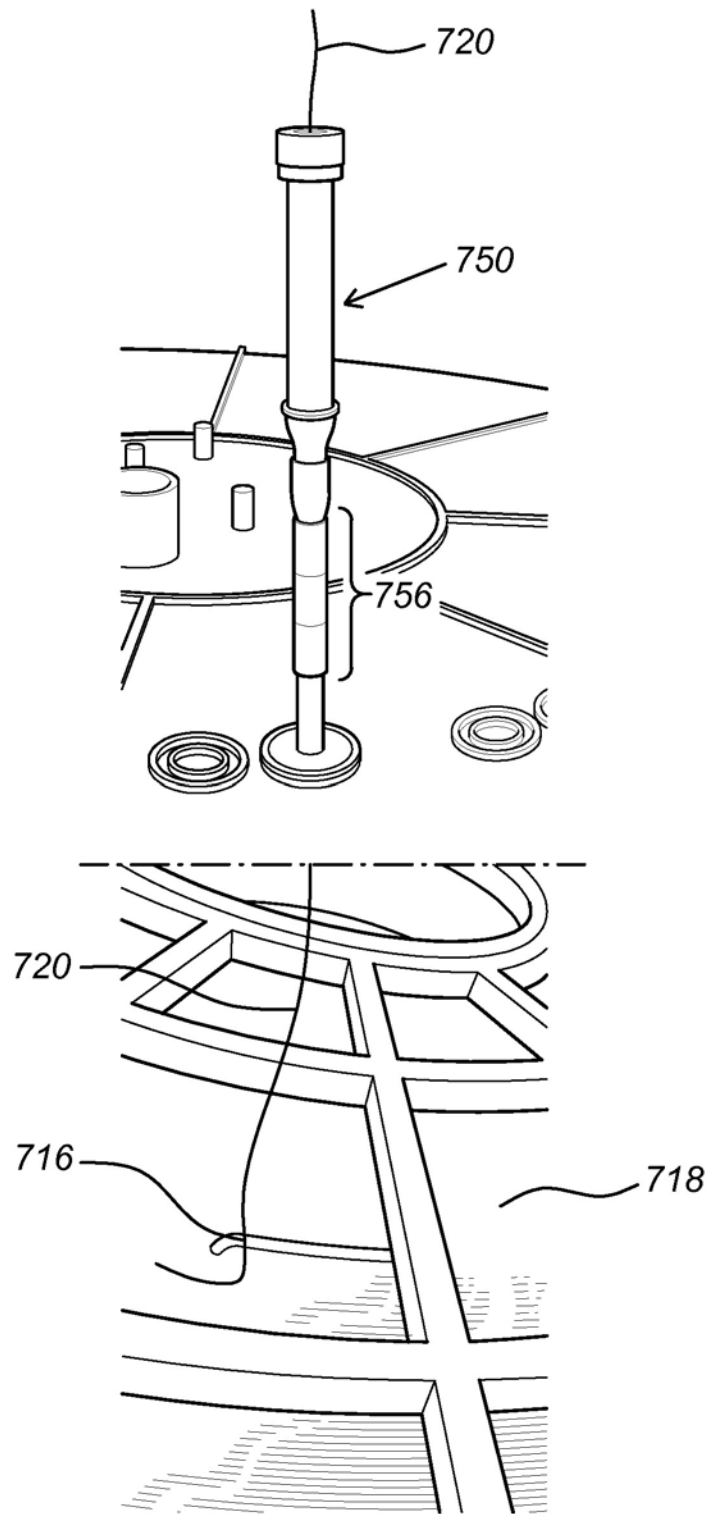


图32

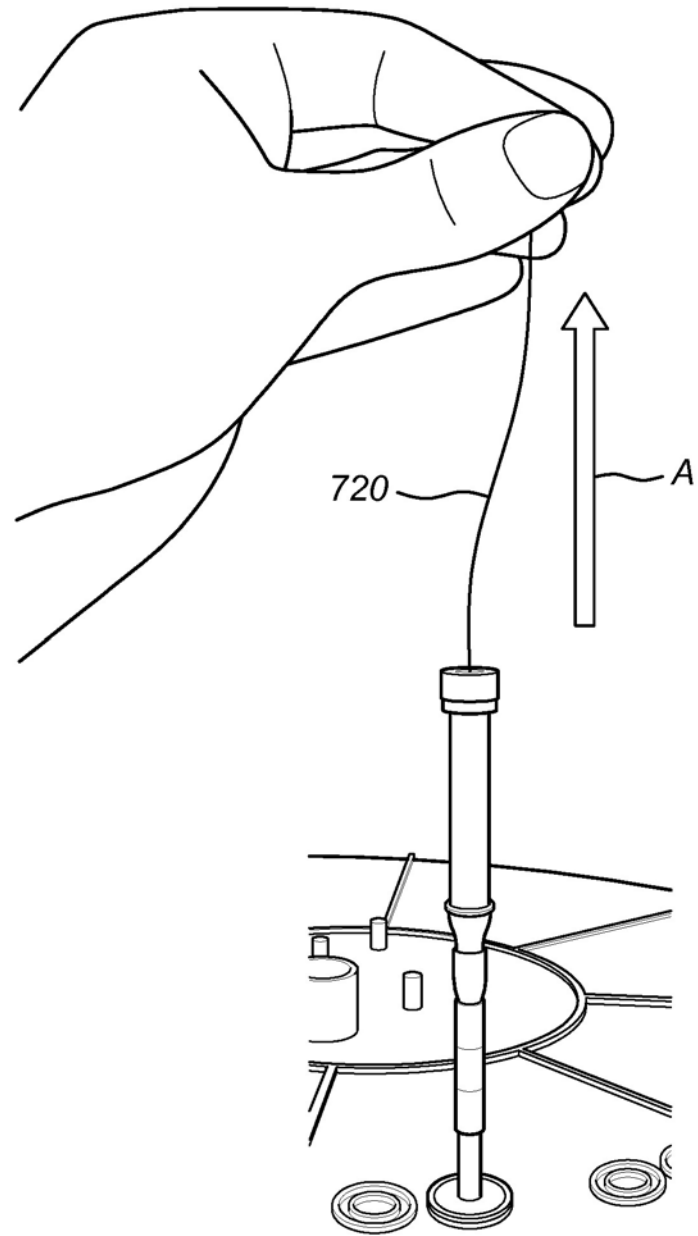


图33

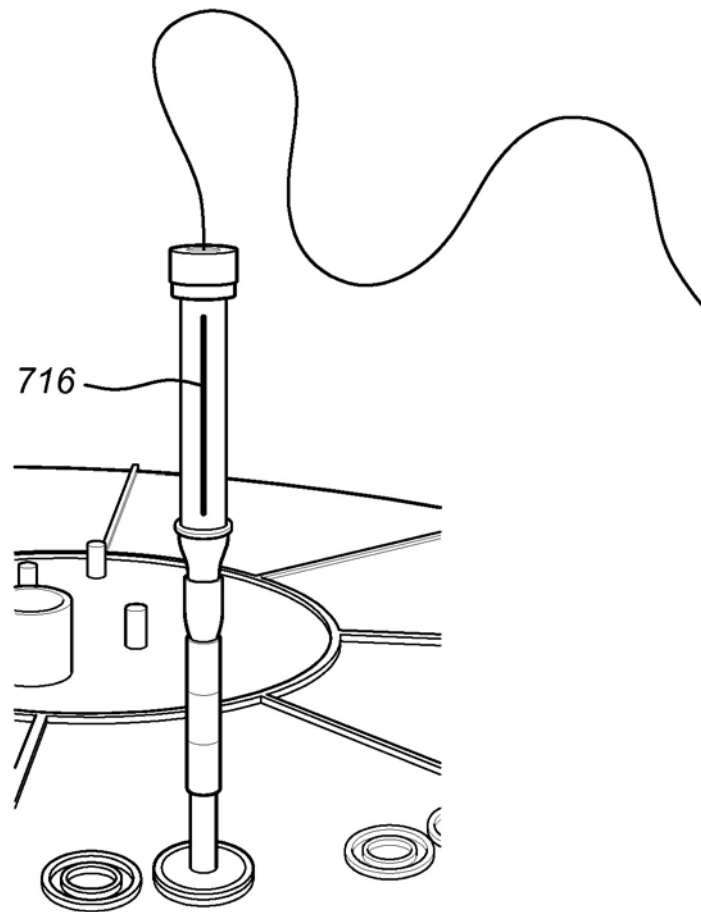


图34

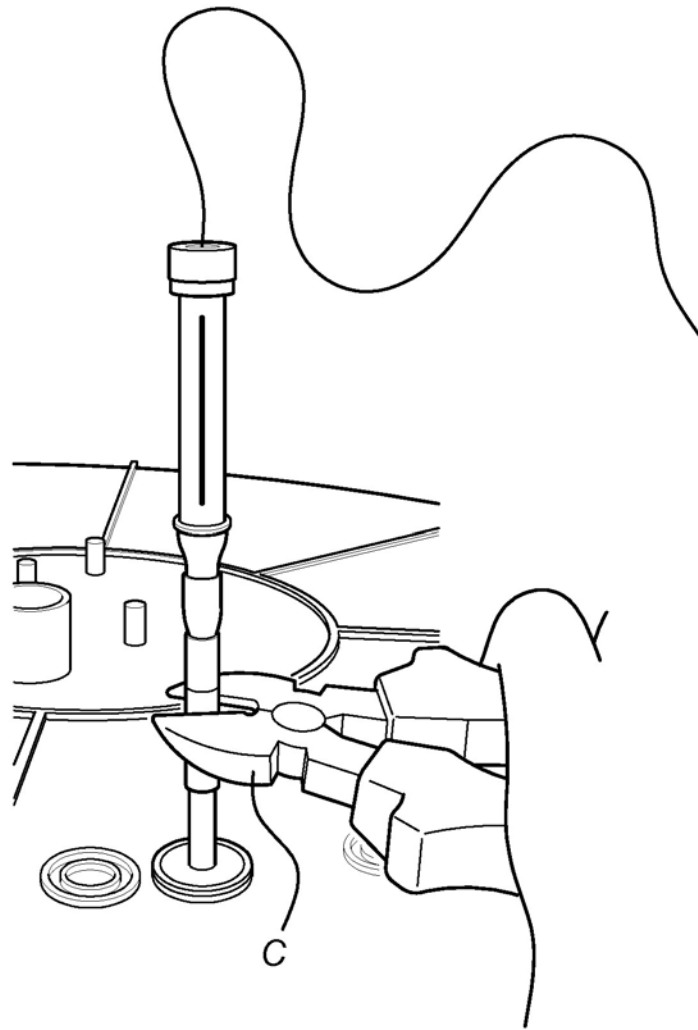


图35

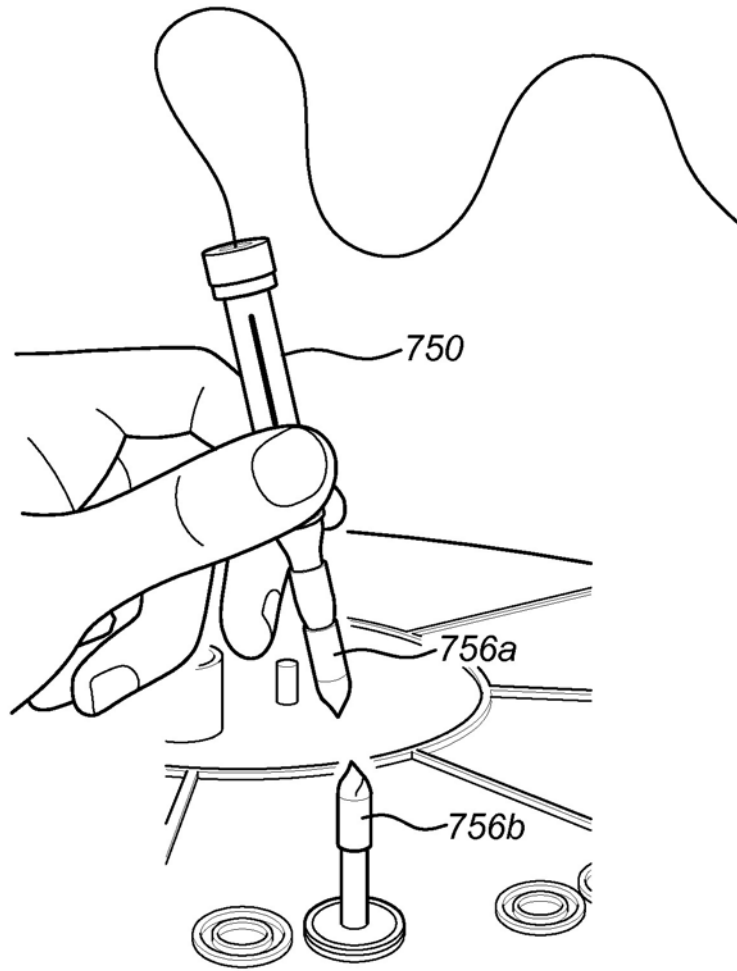


图36

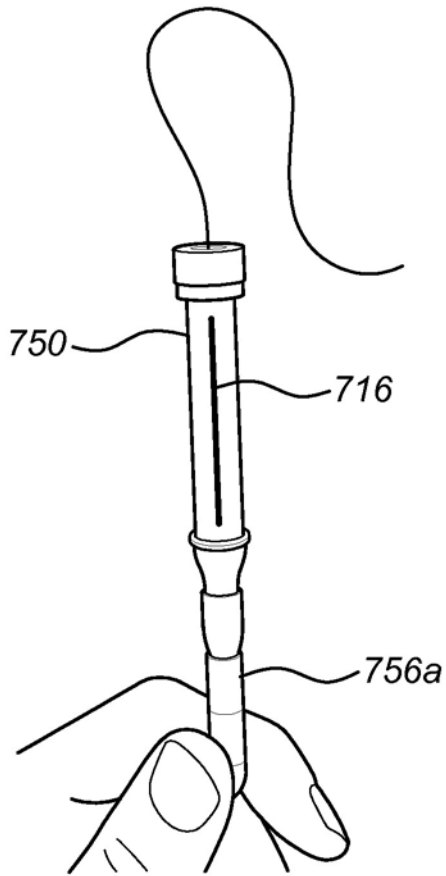


图 37

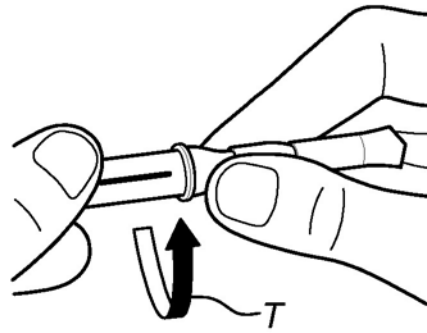


图 38

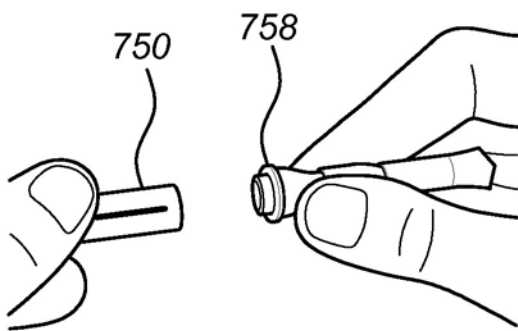


图 39

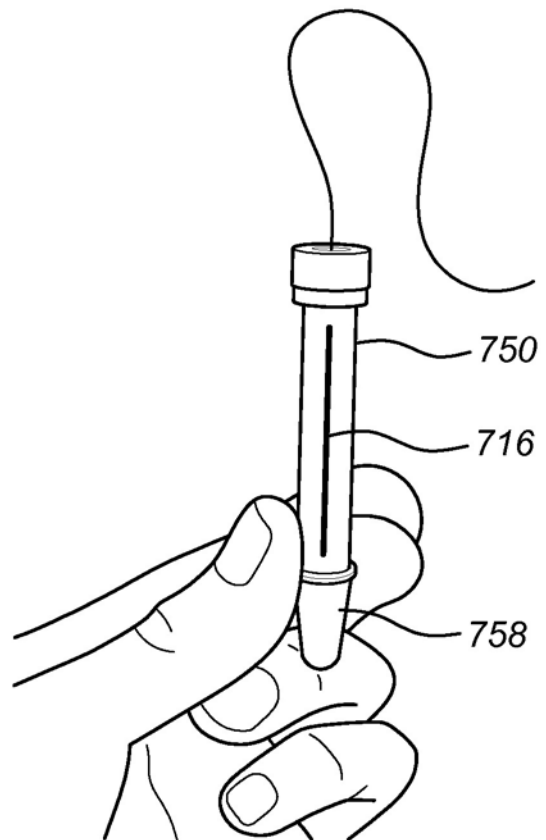


图 40

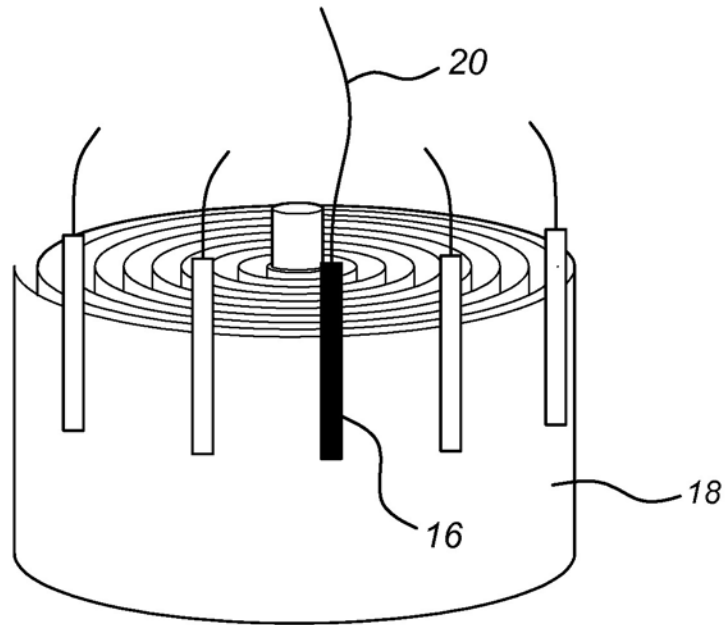


图 41

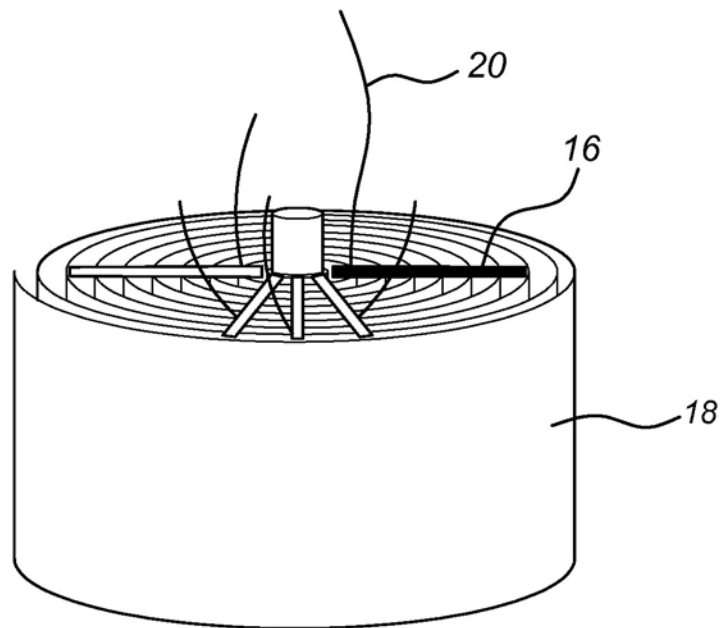


图 42

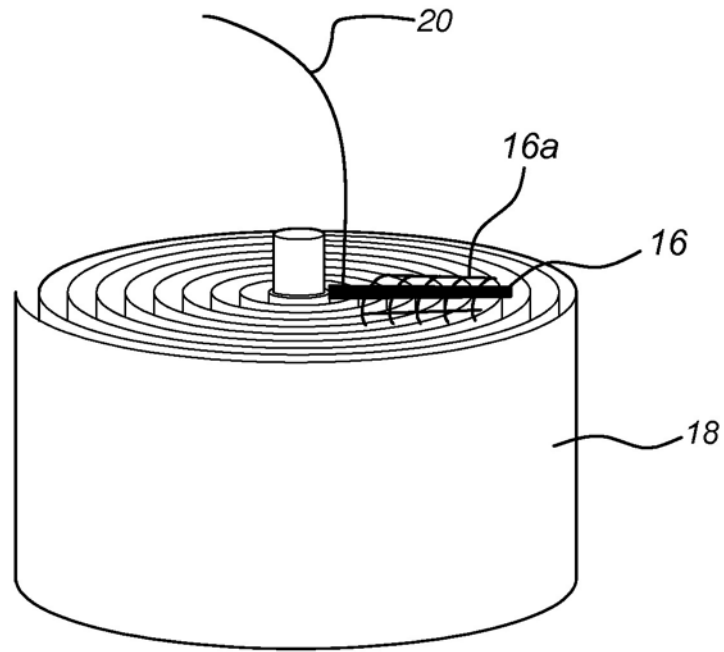


图 43

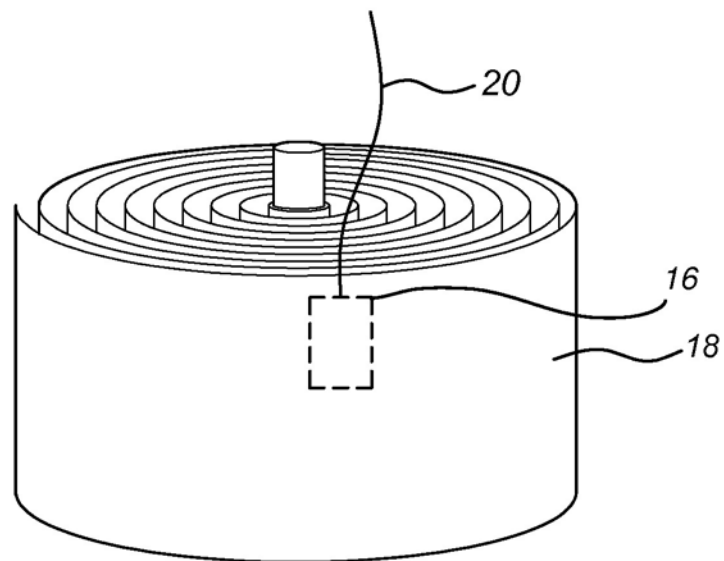


图 44

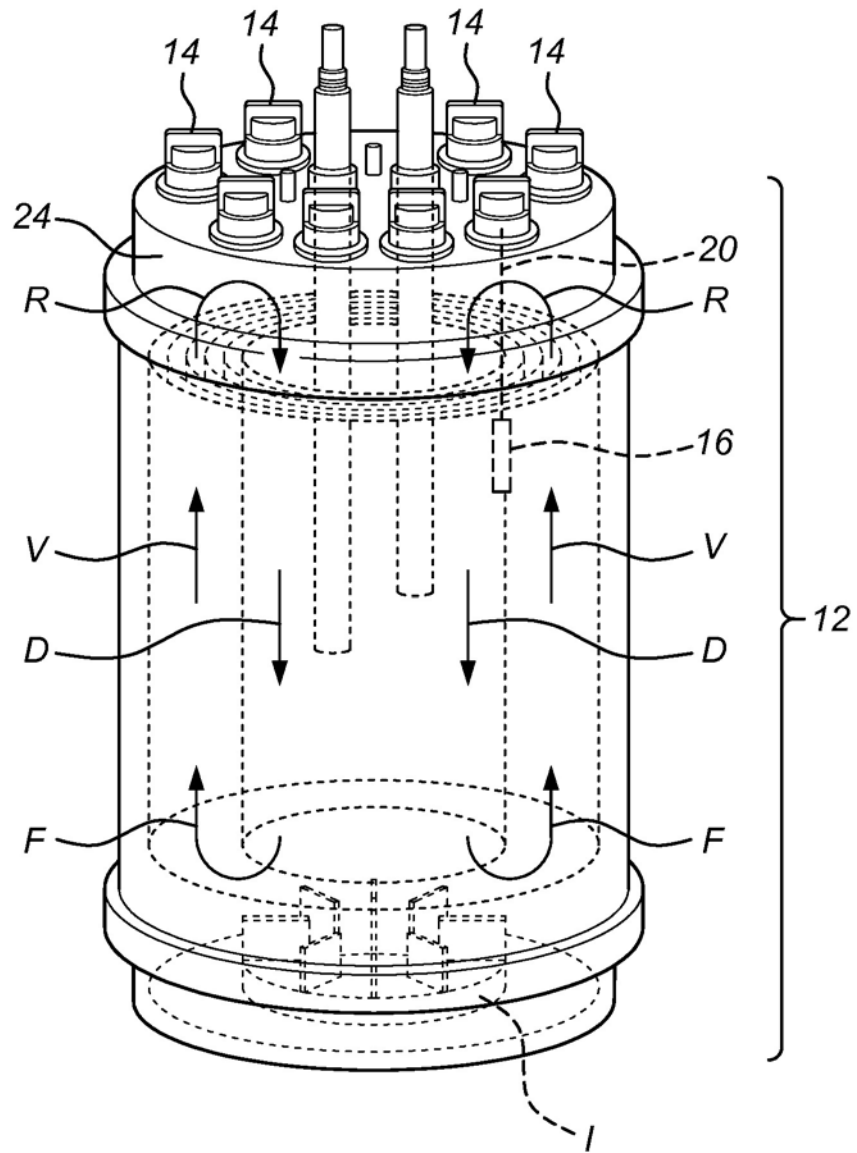


图45