

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C12M 1/12* (2006.01) *C12M 1/00* (2006.01)  
*C12M 1/34* (2006.01) *C12M 3/06* (2006.01)

(52) CPC특허분류  
*C12M 25/06* (2013.01)  
*C12M 23/40* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-7029538

(22) 출원일자(국제) 2016년10월04일  
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2018년10월12일

(86) 국제출원번호 PCT/IN2016/050336

(87) 국제공개번호 WO 2017/158611  
국제공개일자 2017년09월21일

(30) 우선권주장  
201621008865 2016년03월14일 인도(IN)

(71) 출원인  
**파텔 라빈드라쿠마 디루바이**  
인도 구자라트 382421 아흐메다바드 고타 고타 레  
일웨이 크로싱 반데마트람 로얄 레지던시 비-202

(72) 발명자  
**파텔 라빈드라쿠마 디루바이**  
인도 구자라트 382421 아흐메다바드 고타 고타 레  
일웨이 크로싱 반데마트람 로얄 레지던시 비-202

(74) 대리인  
**황의만, 황성필**

전체 청구항 수 : 총 48 항

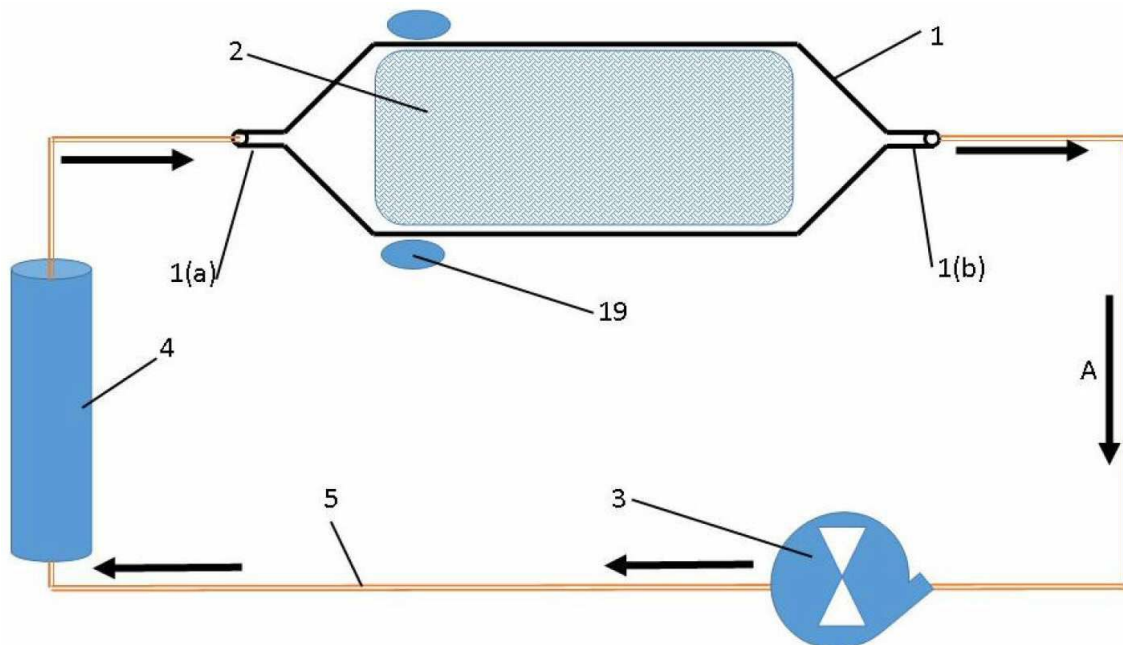
- (54) 발명의 명칭 생물 반응기 시스템 및 그 방법

(57) 요약

The present invention relates to bioreactor system and method thereof wherein support matrix (2) comprises at least one central shaft and plurality of peripheral shaft being radially surrounds central shaft. Arrays of discs (11) are mounted along the shaft by defining interspatial vicinities between two

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1a



successive plates. Thus, discs mounted on peripheral shafts are rotated within the interspatial vicinity of discs of central shaft to ensures sufficient mixing and avoid stagnant sludic zones which is created when discs are mounted closely apart from each other on shafts. Further, plurality of deflector vanes that are axially provided along the length of the central shaft to redirect substantially co-axial direction fluid flow into interior of culture vessel and more specifically towards the central axis. Thus, bioreactor system provides scalable and disposable bioreactor with efficient mixing and homogeneous conditions and thereby supports high density growth and maintenance of cells and other biological material.

(52) CPC특허분류

*C12M 27/14* (2013.01)

*C12M 27/20* (2013.01)

*C12M 41/14* (2013.01)

*C12M 41/26* (2013.01)

*C12M 41/32* (2013.01)

*C12M 41/40* (2013.01)

*C12M 41/42* (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

생물학적 물질, 세포, 화학 물질 또는 효소를 처리, 전파, 배양, 포획 또는 캡슐화하는 생물 반응기 시스템으로서,

유체 매체를 포함하도록 배열되고 세포 배양 공정이 발생하는 적어도 하나의 배양 용기(1)로서, 상기 배양 용기는 입구 포트(1a) 및 출구 포트(1b)를 갖고, 상기 배양 공정에서 원하는 대사 상태를 유지하기 위해 내부로 유체를 공급하고 배양 공정이 완료된 후 유체를 배출하기 위해, 집종 도관 및 샘플링 도관을 포함하는 적어도 하나의 유체 입력/출력 도관(14)을 포함하고, 공정 동안 측정되고 관리하는데 중요한 온도, 압력, pH, 산소, 이산화탄소 및 다른 대사 물질을 위한 적어도 하나의 센싱 요소(15)를 포함하는, 상기 적어도 하나의 배양 용기(1);

적합한 물질로 구성되고 상기 배양 용기(1) 내에 포함된 적어도 하나의 지지 매트릭스(2)로서, 상기 지지 매트릭스(2)는, 상기 용기(1)로 중심에서 및 길이방향으로 연장되는 적어도 하나의 회전 가능한 중심 샤프트(9); 상기 중심 샤프트(9)를 회전 가능하게 위치시키기 위한 적어도 하나의 지지 프레임워크 링(6); 적어도 하나의 샤프트 장착 프레임(6c); 상기 중심 샤프트(9)에 대해 상기 배양 용기(1) 내로 반경 방향으로 및 평행하게 연장되는 하나 이상의 회전 가능한 주변 샤프트(10); 세포 부착 및 세포 성장을 위한 기층을 제공하기 위해 상기 중심 샤프트(9) 및 상기 주변 샤프트(10)들에 중심에 및 길이방향으로 적재된 복수의 적층된 이격된 디스크(11); 중간 공간(interspatial space)(11a)을 한정하기 위해 두 개의 연속하는 디스크(11) 사이에 위치한 스페이서; 상기 용기(1) 내에서 혼합 상태를 개선하기 위해 반경 방향의 유체 흐름을 생성하고 바람직하게는 상기 중심 샤프트(9) 및 상기 주변 샤프트(10)들에 적재되고 배플 장착 링(8)에 장착된 상기 디스크(11)들을 반경 방향으로 및 평행하게 둘러싸도록 상기 배양 용기(1)의 축방향 길이를 따라 연장된 하나 이상의 회전 가능한 디플렉터 베인(12)들로 구성된 하나 이상의 배플링 수단(baffling means); 중심 샤프트(9), 주변 샤프트(10)들 및 배플링 수단을 회전시키기 위한 하나 이상의 회전 수단(13); 및 중심 샤프트(9) 및 주변 샤프트(10)들을 원활히 회전 가능하게 지지하기 위한 샤프트 구동 기구(16)를 포함하고, 상기 주변 샤프트(9)들에 적재된 디스크(11)들은 상기 중심 샤프트(9)에 적재된 디스크들 사이의 중간 공간(11a) 내로 부분적으로 및 회전 가능하게 연장되는, 상기 적어도 하나의 지지 매트릭스(2);

재순환 루프(A)를 생성하기 위해 상기 배양 용기(1)로 또는 상기 배양 용기로부터 유체를 무균 상태로 전달하는 것을 지원하기 위해 상기 입구 포트(1a)와 상기 출구 포트(1b) 사이를 외부적으로 및 유체적으로 연결하는 적어도 하나의 재순환 루프 도관(5);

상기 재순환 루프 도관(5)에 설치되고 원하는 공정 동작을 위해 상기 재순환 루프(A)를 통해 원하는 유체 흐름을 생성하는 적어도 하나의 유체 펌핑 수단(3)으로서, 매체, 공급물, 완충액 및 다른 공정 요구물을 포함하는 유체를 전달하기 위한 상기 적어도 하나의 유체 펌핑 수단; 및

상기 재순환 루프(A)를 통해 유체가 순환하는 동안 하나의 상(phase)으로부터 다른 상으로 유체 물질을 효율적으로 전달하기 위해 상기 재순환 루프 도관(5)에 설치된 적어도 하나의 가스 교환 수단(4)을 포함하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 시스템은 공정 요구에 따라 유체의 공급원을 제공하기 위해 적어도 하나의 유체 저장조를 포함하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 시스템은 배양 공정 동안 공정 파라미터를 모니터링하고 제어하기 위해 적어도 하나의 공정 제어 시스템을 포함하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 시스템은 상기 회전 수단(13)을 통해 상기 샤프트들 및 배플 수단을 회전시키기 위한 하나 이상의 운동 에너지원(19)을 포함하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 5

제1항에 있어서, 상기 배양 용기(1)는 생물 반응기 배양 용기(1) 내의 유체 함량 및 유체 체적을 정확하게 측정하기 위해 하나 이상의 중량 센싱 요소를 구비하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 6

제1항에 있어서, 상기 배양 용기(1)는 적어도 하나의 가스 공급 도관 및 가스 배출 도관 또는 공기 통기구를 구비하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 상기 디스크(11)는 현저히 증가된 표면적을 제공하고 2D 또는 3D 세포 및 조직 배양을 지원하기 위해 섬유질 또는 다공성 물질로 구성된 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 8

제1항에 있어서, 상기 디스크(11)는 기능 강도를 제공하고 세포의 다층 구조를 지지하기 위해 강성이고 투명한 물질로 구성된 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 9

제1항에 있어서, 상기 디스크(11)는 추가적인 난류 및 보다 효율적인 유체 흐름을 제공하기 위해 애퍼처 또는 구멍을 갖게 구성된 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 10

제1항에 있어서, 상기 디스크(11)는 활성 성분 또는 입자 또는 화학적 또는 생화학적 잔기(moiety) 또는 분자가 포획 또는 캡슐화되거나 표면 코팅된 물질로 구성된 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 11

제1항에 있어서, 상기 디스크(11)는 상업적으로 이용 가능한 세포 배양용 캐리어(FibraCel<sup>®</sup> 및 BioNOC-II<sup>®</sup> 캐리어) 또는 다른 형상으로 형성된 세포 캐리어를 디스크 형태의 컨테이너 내에 충전하여 구성된 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 12

제1항에 있어서, 상기 중심 샤프트(9)에 적재된 디스크(11)는 상기 중심 샤프트(9)를 둘러싸게 위치한 주변 샤프트들이 없을 때 배플링 베인(baffling vane)으로서 하나 이상의 디플렉터 베인(12)에 의해 직접 둘러싸이는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 13

제1항에 있어서, 6개의 주변 샤프트(10)가 중심 샤프트(9)를 둘러싸게 위치되고, 한 번에 하나의 기하학적 평면에서 3개의 대안적인 주변 샤프트에 적재된 디스크(11)들은 상기 중심 샤프트(9)에 적재된 2개의 연속적인 디스크(11) 사이에 생성된 중간 공간(11a)을 부분적으로 그리고 실질적으로 침투하여 점유하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 14

제1항에 있어서, 1개 또는 2개의 주변 샤프트(10)가 중심 샤프트(9)를 둘러싸게 위치되고, 한 번에 하나의 기하학적 평면에서 하나의 주변 샤프트(10)에 적재된 디스크(11)들은 상기 중심 샤프트(9)에 적재된 2개의 연속적인 디스크 사이에 생성된 중간 공간(11a)을 부분적으로 및 실질적으로 점유하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 15

제1항에 있어서, 3개의 주변 샤프트(10)가 상기 중심 샤프트(9)를 둘러싸게 위치되고, 상기 주변 샤프트(10)에 적재된 디스크(11)들은 상기 중심 샤프트(9)에 적재된 2개의 연속적인 디스크 사이에 생성된 중간 공간(11a)을 부분적으로 및 실질적으로 점유하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 16

제1항에 있어서, 6개를 초과하는 주변 샤프트(10)가 상이한 연속적인 근-중심 직경으로 중심 샤프트(9)를 둘러싸게 위치되고, 3개의 대안적인 주변 샤프트에 적재된 디스크들은 상기 중심 샤프트(9)에 적재된 2개의 연속하는 디스크 사이에 생성된 중간 공간을 부분적으로 및 실질적으로 점유하고, 최외측 주변 샤프트(10)의 디스크들은 내부 원형 주변 샤프트들의 연속적인 디스크들 사이의 중간 공간(11a)에 부분적으로 침투하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 17

제1항에 있어서, 상기 디플렉터 베인(12)의 형상은 접선방향으로 유체의 흐름을 최대로 하기 위해 실질적으로 편평한 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 18

제1항에 있어서, 상기 디플렉터 베인의 형상은 추가적인 반경방향 및 축방향 흐름을 제공하기 위해 만곡되거나, 비틀어지거나 및/또는 각진 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 19

제1항에 있어서, 상기 디플렉터 베인(12)은 배플 장착 플레이트(8)에 몰딩된 임펠러 베인에 몰딩된 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 20

제1항에 있어서, 상기 배플링 수단은 상기 중심 샤프트(9)에 고정 적재되고, 상기 중심 샤프트(9)의 회전으로부터 회전 에너지를 취하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 21

제1항에 있어서, 상기 배플링 수단은 상기 중심 샤프트(9)에 회전 가능하게 적재되고, 상기 배플링 수단에 장착된 회전 수단으로부터 회전 에너지를 얻음으로써 상기 배플 지지 링(8)에 적재된 상기 디플렉터 베인(12)의 회전 속도가 상기 샤프트의 회전과는 독립적으로 선택적으로 제어되는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 22

제1항에 있어서, 상기 배플링 수단은 상기 디플렉터 베인(12)이 상류 단부로부터 하류 단부로 반경방향으로 상승되고 상기 지지 매트릭스(2)를 둘러싸도록 상기 용기(1)의 상류 단부에 적재되는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 23

제1항에 있어서, 상기 배플링 수단은 상기 디플렉터 베인(12)이 하류 단부로부터 상류 단부로 반경방향으로 상승되고 상기 지지 매트릭스(2)를 둘러싸도록 상기 용기(1)의 하류 단부에 적재되는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 24

제1항에 있어서, 상기 배플링 수단을 회전시키는 에너지가 상기 용기(1)의 일 단부로부터 타 단부로 흐르는 유체의 흐름으로부터 얻어지고 상기 배플링 수단이 회전하는 것에 의해 외부 회전 수단 없이 상기 중심 샤프트 및 상기 주변 샤프트들이 회전하도록 하기 위해 상기 배플링 수단의 상기 디플렉터 베인(12)은 나선형 형상이고 상기 중심 샤프트(9)에 고정 적재되는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 25

제1항에 있어서, 상기 배양 용기(1)의 벽은 산소 및 이산화탄소 가스를 포함하는 유체들 사이에 직접적이고 신속한 물질 전달을 위해 상기 가스 교환 수단을 수용하도록 구성된 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 26

제25항에 있어서, 상기 가스 교환 수단은 가스 투과성 실리콘 튜빙 및/또는 가스 투과성 멤브레인을 포함하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 27

제1항에 있어서, 상기 배양 용기(1)의 벽은 온도 조절 요소를 수용하도록 구성된 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 28

제27항에 있어서, 상기 온도 조절 요소는 물 순환 재킷 및 실리콘 고무 히터를 포함하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 29

제1항에 있어서, 상기 배양 용기(1)는 비-일회용 물질로 구성되고, 일회용 지지 매트릭스를 수용하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 30

제1항에 있어서, 상기 배양 용기(1)는 비-일회용 물질로 구성되고, 비-일회용 지지 매트릭스 구성 요소를 수용하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 31

제1항에 있어서, 하나 이상의 생물 반응기 시스템 구성 요소는 상기 생물 반응기가 단일 사용 일회용 시스템으로 사용될 수 있도록 적절한 중합체 물질로 구성된 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 32

제1항에 있어서, 하나 이상의 생물 반응기 시스템 구성 요소는 감마선에 안정한 적합한 중합체 물질로부터 구성되어 상기 생물 반응기가 미리 살균된 것으로 사용되고 단일 사용 일회용 시스템으로 사용되는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 33

제1항에 있어서, 하나 이상의 생물 반응기 시스템 구성 요소는 증기 살균에 안정한 적합한 중합체 물질로 구성되어 상기 생물 반응기가 증기 살균 후 및 단일 사용 일회용 시스템으로 사용되는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 34

제1항에 있어서, 상기 배양 용기(1)는 사용 중 및 동작 동안 실질적으로 수평으로 위치되는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 35

제1항에 있어서, 상기 배양 용기(1)는 사용 중에 및 동작 동안 실질적으로 수직으로 위치되는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 36

제1항에 있어서, 상기 배양 용기(1)는 사용 중 및 동작 동안 공정 요구에 따라 특정 정도로 실질적으로 각져 있

거나(angled) 경사져(tilted) 위치되는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 37

제1항에 있어서, 상기 배양 용기(1)는 사용 중 및 동작 동안 유체로 완전히 채워지는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 38

제1항에 있어서, 상기 배양 용기(1)는 사용 중 및 동작 동안 추가적인 가스 교환을 위한 오버레이 공간(23)을 생성하도록 유체로 부분적으로 채워지는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 39

제1항에 있어서, 2개 이상의 배양 용기(1)가 상기 유체 경로를 따라 병렬로 또는 직렬로 배열되는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 40

제1항에 있어서, 상기 디스크의 표면에 부착된 생물학적 세포 또는 상기 지지 매트릭스의 디스크(11)의 표면에 코팅된 활성 성분 또는 입자를 분리시키기 위해 상기 지지 매트릭스(2)의 표면에 진동 운동을 효과적으로 가하는 진동 공구 또는 초음파 분해 탐침이 상기 배양 용기의 벽을 통해 상기 지지 매트릭스(2)에 삽입된 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 41

제1항에 있어서, 상기 생물 반응기 시스템은 외부 가스 교환 기구 및 재순환 루프 없이 동작되는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 42

제1항에 있어서, 상기 지지 매트릭스(2)는 상기 배양 용기 내에 부분적으로 덮이거나 포함된 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 43

제1항에 있어서, 상기 지지 매트릭스(2)는 상기 배양 용기 내에 덮여 있지도 않고 포함되어 있지도 않은 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템.

#### 청구항 44

생물학적 세포를 배양하기 위한 생물 반응기 시스템을 동작시키는 방법으로서,

- A. 소정의 유체(배양 매체)를 배양 용기(1)에 첨가하는 단계;
- B. 상기 생물학적 세포의 성장을 촉진하기 위해 배양 매체에 물질을 첨가하는 단계;
- C. 공정 가스를 상기 배양 매체로 전달하고 상기 배양 매체로부터 상기 공정 가스를 효율적으로 물질 전달하기 위해 가스 교환 기구(4)에 의해 가스 공급을 시작하는 단계;
- D. 원하는 양의 생물학적 세포를 상기 용기(1)에 첨가하여 배양 공정에 시드(seed)를 제공하는 단계;
- E. 샤프트를 회전시키고 배플링 수단을 회전시키기 위해 지지 매트릭스(2)에 적재된 회전 수단(13)에 운동 에너지 지원을 인가하여 상기 배양 공정을 시작하는 단계;
- F. 센싱 요소(15), 공정 제어 수단, 펌핑 수단 및 제어된 속도로 공정 유체를 첨가하기 위해 제공된 도관을 사용하여 최적의 레벨로 배양 파라미터를 측정 및 제어하는 단계;
- G. 유체 출구 도관을 통해 상기 용기(1)로부터 제어된 속도로 생성물 스트림(유체)을 부분적으로 수집하고, 일정한 유체 체적을 유지하고 바이오 처리의 관류 모드 공정에서 정상 상태 동작을 달성하도록 제어된 속도로 영양이 풍부한 신선한 매체 또는 유체를 첨가하는 단계;

H. 원하는 양의 생성물이 생성될 때 상기 생물 반응기 용기(1)의 수확을 시작하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템을 동작시키는 방법.

#### 청구항 45

제44항에 있어서, 상기 디스크(11)의 표면에 상기 생물학적 물질, 효소, 촉매 단백질, 또는 단백질의 활성 부위를 코팅, 매립 또는 캡슐화하고, 단계(A) 내지 단계(H)를 수행하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템을 동작시키는 방법.

#### 청구항 46

제44항에 있어서, 상기 디스크(11)의 표면에 화학적, 유기 또는 무기 화합물 또는 이들의 작용 기 또는 활성 부위를 코팅, 매립 또는 캡슐화하고, 단계(A) 내지 단계(H)를 수행하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템을 동작시키는 방법.

#### 청구항 47

제44항에 있어서, 유출 스트림을 처리하고 다양한 생체 재생 처리를 위해 생물 반응기 시스템을 사용할 수 있기 위해 상기 표면에 미생물이 성장하는 것을 지지하기 위해 적합한 물질로 대향 디스크(11)를 구성하고, 단계(A) 내지 단계(H)를 수행하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템을 동작시키는 방법.

#### 청구항 48

제44항에 있어서, 상기 디스크(11)를 화학적, 생화학적 물질중 또는 살아 있는 유기체로 코팅하는 단계, 및 유입 가스로부터 필수적으로 제거할 산업 폐 가스 또는 다른 휘발성 물질을 함유하는 가스 형태의 유체를 상기 용기의 입구 포트로부터 흐르게 하고 상기 반응기를 바이오-필터 또는 화학적-필터로서 동작시켜 공정 요건에 따라 다양한 가스 혼합물을 처리하거나 세정하고 단계(A) 내지 단계(H)를 수행하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 생물 반응기 시스템을 동작시키는 방법.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 본 발명은 생물 반응기에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 다양한 유형의 세포를 대규모로 재배(cultivating) 및 배양(culturing)하고 확장 가능한 지지 매트릭스(support matrix)에서 물질을 처리하는 것을 지원하는 시스템 및 방법에 관한 것이다.

#### 배경 기술

[0002] 생물 반응기 시스템은 생물학적 물질을 합성하는데 점점 더 많이 사용되고 있다. 그 중에서도, 포유류 세포주(cell line)는 진단 및 치료용으로 다양한 재조합 단백질을 생산하기 위해 바이오 의약 산업에 일반적으로 사용된다. 증가하는 시장 요구를 충족시키기 위해서는 대규모의 고밀도로 세포를 배양하는 것이 필요하다. 제품 경제성을 향상시키고, 생존 가능한 세포 밀도를 최대화하고 최종 제품 역가를 증가시키기 위해 배양 기간을 연장시키기 위해 세포 배양 조건을 최적화하는 것은 대규모 공정 개발에서 가장 중요한 목표가 되었다. 오늘날 생명공학 생산 분야에서의 압력은 더 빠른 속도, 더 낮은 비용 및 더 많은 유연성을 위한 것이다. 이상적으로 생산 유닛은 소형(더 적은 투자를 요구)이고 모듈식이어야 한다.

[0003] 포유류 세포 배양에서 유래된 치료용 단백질에 대한 수요는 더 새로운 제품이 승인됨에 따라 계속 증가하고 있다. 항체 및 수용체 결합 단백질과 같은 더 새로운 제품 중 일부는 더 많은 용량(dose)으로 투여되어야 하고 이것은 초기 제품의 경우보다 더 많은 양을 생산할 것을 요구한다. 그 결과, 추가 장비의 투자를 최소로 하면서 포유류 세포 배양 생물 반응기의 생산성을 계속 증가시킬 필요성이 있다.

[0004] 포유류 세포는 천연 인간 단백질의 것과 유사한 당화 프로파일을 갖는 넓고 다양한 단백질을 발현하는 능력 때문에 인간에 사용하기 위한 재조합 단백질을 제조하기 위한 바람직한 발현 시스템이다.

[0005] 교반형 생물 반응기에서 생산하는 것은 확장(scale-up)이 비교적 간단하지만 달성되는 세포 밀도가 비교적 낮은 것을 보상하기 위해 큰 배양 체적(즉, 10 m<sup>3</sup> 내지 20 m<sup>3</sup>)을 요구한다. 전형적으로, 부유 배양(suspension

culture)에서의 세포 밀도는  $10^6$  세포  $\bullet$  ml<sup>-1</sup> 내지  $10^7$  세포  $\bullet$  ml<sup>-1</sup>이다. 교반 탱크에서의 회분 배양(batch culture)에 비해, 다양한 수단에 의해 세포를 생물 반응기에 유지하고 일정한 체적의 배양에서 적절한 속도로 매체(medium)를 관류시키는 관류 배양(perfusion culture)에서는 거의 10배 높은 세포 밀도(즉,  $10^7$  세포  $\bullet$  ml<sup>-1</sup> 내지  $10^8$  세포  $\bullet$  ml<sup>-1</sup>)를 얻을 수 있다.

[0006] 세포 배양을 위해 교반 탱크 생물 반응기 기술을 적용시키는 것은 설계 상 부유 세포에 본질적으로 높은 국소 전단 속도(shear rate)를 나타내어 확장이 매우 어렵고 또한 부유에 적응하는데 시간 기간을 요구하며 공정 구축 및 경제성을 위해 원하는 클론을 선택하는 것이 카운트 가능할 수 있기 때문에 무익한 일이다. 유가 배양(fed-batch) 생물 반응기에서는 매체로 채워진 생물 반응기를 사용하여 세포를 배양하고 (예를 들어) 8일 내지 21일 후에 회분식으로 수확한다. 대조적으로, 관류 생물 반응기는 일반적으로 훨씬 장기간, 심지어 수개월 동안 소비된 매체를 연속적으로 배양하고, 공급물을 제공하고 및 회수(수확)하는 것을 포함한다. 세포는 모세관 섬유 또는 다른 멤브레인(membrane)에서 성장하도록 결합되거나 또는 특수한 여과 또는 분리 시스템을 사용하여 생물 반응기에서 유지되도록 하는 것에 의해 매체 내에 유지된다.

[0007] 배양 중인 많은 세포들이 상대적으로 취약한 것을 감안할 때, 반응기 설계 상 공정의 경제성을 향상시키는 것이 중요한 문제가 된다. 배양 환경에 관한 동물 세포의 요구 사항 중에서, 유체 역학적 전단 능력은 가능한 한 많이 감소시켜야 하는 중요한 고려 사항이다. 반면에, 예를 들어, 교반기에 의해 충분히 혼합하는 것은 생물 반응기 내부에 균질한 상태를 유지하고, 염기(base), 연속 공정에서의 매체 또는 소포제(antifoam agent)와 같은 공급물을 신속히 분배할 수 있도록 제공되어야 한다.

[0008] 조혈 세포주 및 일부 다른 것을 제외하고는 척추동물에서 유래된 세포의 대부분은 부착(anchorage)에 의존하여서 세포 부착 및 퍼짐을 허용하기 위해 특별히 처리된 (즉, 조직 배양 처리된) 적합한 기질(substrate)에서 배양되어야 한다. 그러나, 많은 세포주는 또한 부유 배양에 적응될 수 있다. 유사하게, 상업적으로 이용 가능한 곤충 세포주의 대부분은 단일 층 또는 부유 배양에서 잘 성장한다. 부착에 의존하는 세포 배양 시스템의 효율은 플레이트(plate), 스파이럴(spiral), 세라믹 및 마이크로 캐리어(microcarrier)를 사용하여 이용 가능한 표면적을 증가시키는 것에 기반한다. 루 플라스크(Roux flask), 롤러 병, 멀티 트레이 유닛, 합성 중공 섬유 카트리지, 옵티셀(opticell) 배양 시스템, 플라스틱 필름, 비드 베드(bead bed) 반응기, 마이크로 캐리어 배양기 등이 현재 사용되는 다양한 배양 용기이다. 위의 모든 배양 용기는 용기 설계 상 및 다수의 유닛을 사용하는 것으로 인해 증가된 표면적을 제공한다.

[0009] 대량의 비-부착에 의존하는 세포를 생산하기 위해, 세포는 일반적으로 영양분(nutrient)이 있는 액체 매체에서 부유 상태로 성장되며, 이 매체를 교반함으로써 각 세포가 영양분에 적절히 침지되고 대사성 폐기물은 세포로부터 멀리 운반되는 것이 보장된다. 세포의 특정 분획은 임펠러(impeller)와의 충격에 의해 또는 높은 전단력에 의해 파괴된다. 기존의 부유 배양으로부터 세포를 수확하려면 원심 분리기 또는 미세 다공성 필터와 같은 특수 보조 장비가 필요하다. 또한 영양 액체 1 입방 센티미터당 세포 농도가 상대적으로 낮다.

[0010] 바이오 의약품 제조 능력 및 생산(Biopharmaceutical Manufacturing Capacity & Production)에 관한 최근의 시장 조사 보고서에 따르면 바이오 의약 회사가 바이오 처리와 관련된 본질적으로 모든 분야에서 예산을 일정하게 증가시켰음을 보여준다. 설문 조사 데이터에 따르면 또한 산업 전문가들이 생물 처리 장비에, 특히 생물 반응기 제품에 명백히 기술 혁신이 없는 것을 참지 못하고 있고, 또 많은 산업 분야에서 관류 생물 반응기의 최근의 진보를 알지 못하고 있다는 것을 보여준다.

[0011] 관류 시스템의 생산성은 세포 밀도가 높기 때문에 유사한 유가 배양 생물 반응기의 생산성보다 10배 이상 더 높을 수 있다. 다시 말해, 2 m<sup>3</sup>의 관류 배양은 20 m<sup>3</sup>의 유가 배양과 대략 동일할 수 있다. 관류 배양의 단점은 복잡하다는 것과 확장성이 어렵다는 것을 포함한다. 예를 들어, 부유 세포를 위한 대규모 세포 유지 디바이스는 아직 완전히 만족스럽지 않다.

[0012] 다양한 종류의 세포 배양 시스템이 세포 성장을 향상시키기 위해 개발되었다. 이러한 특허 목록 및 이와 관련된 제한 사항은 아래에 제시된다. 영국 특허 번호 1,097,669는 성장 매체용 용기 및 용기 내 랙(rack) 상에 스택(stack)으로 배열된 일련의 이격된 플레이트를 포함하는 조직 배양 전파기(propagator)를 기술한다. 플레이트의 스택은 용기 내에 고정되어 있고, 용기 내의 성장 매체에 필요한 순환은 에어 리프트 펌프에 의해 달성된다. 사용 시에, 플레이트의 표면에 정착(settle)되어 성장하기를 원하는 세포를 접종한 성장 매체를 용기에 필요한 정도로 채우고, 용기 내에 요구되는 순환은 에어 리프트 펌프 또는 자성 교반 또는 진동 교반에 의해 생성된다.

이러한 유형의 변형된 장치는 스웨덴의 바이오텍(Biotec) AB사에 의해 제안되었으며, 이 장치는 원통형 용기 내에서 회전 가능한 축방향 샤프트 상에 장착된 디스크 스택을 포함한다. 사용 시, 이 장치는 먼저 수직으로 위치 되는데, 즉 작업 표면에 직각으로 축방향 샤프트를 갖게 위치되고, 용기는 영양 매체로 채워지고, 세포는 디스크 표면 상에서 배양되고 나서 장치는 수평 위치로 놓여지고 영양 매체의 약 절반이 용기로부터 제거되고, 샤프트 및 디스크의 스택이 회전되어 디스크의 하부 구획만이 임의의 한 순간에 용기에 놓인 성장 매체를 통과하게 한다.

[0013] 영국 특허 번호 1,393,654에서, 바이오텍 장치를 추가적으로 변형한 것이 제안되었고, 여기서 디스크 직경 대 내부 용기 직경의 비가 0.80:1 내지 0.90:1이고 또한 디스크의 예지와 용기의 내부 벽 사이의 거리는 1/2 인치 내지 3/4 인치(1.27 cm 내지 1.905 cm)인 것이 선호된다. 또한 디스크의 총 표면적 대 용기의 체적의 비가 5.5:1 내지 6.0:1인 것이 선호된다. 이 장치 및 바이오텍 장치의 동작 특성을 고려하여, 디스크가 성장 매체 안으로 및 밖으로 회전함에 따라 세포에 발생하는 전단력을 최소화하기 위해 샤프트의 회전이 느릴 필요가 있다. 이 장치의 실제 최대 회전 속도는 0.5 rpm 정도가 제안되었다. 저속이 자주 사용된다.

[0014] 미국 특허 3407120의 바이스(Weiss) 및 슈라이허(Schleicher)는, 살아 있는 세포를 성장시키는 방법 및 장치로서, 상기 장치는 세포가 부착되고 증식할 수 있는 복수의 이격된 플레이트를 포함하고, 이 장치를 영양 매체를 포함하는 용기 또는 탱크형 컨테이너 내에 배치한, 상기 살아 있는 세포를 성장시키는 방법 및 장치를 발명하였다. 매체를 혼합하고 매체에 산소를 공급하는 수단이 제공된다. 성장하기를 원하는 세포를 매체에 심고, 실질적으로 유착하는 단일 층의 세포들이 플레이트의 표면에 형성될 때까지 매체에 산소를 공급하고 매체를 순환시킴으로써 장치 내에서 세포를 성장시킬 수 있다.

[0015] 미국 특허 3933585에서 윌리엄 제이. 맥알러(William J. McAleer)의 주목적은 가장 작은 체적의 세포 및 백신을 최고 수율로 얻기 위해 표면적 또는 세포 배양 면적 대 매체 체적의 비를 증가시킴으로써 수율을 증가시키고 생산 비용을 감소시키는 것이었다. 이 발명은 스웨덴의 바이오텍 A. B.사에 의해 생산된 멀티플레이트 기계를 더 개량한 것이었다. 바이오텍 장치에서  $3.0 \text{ cm}^2/\text{ml}$  부근의 표면적 대 체적 비율이 달성되었다. 윌리엄 제이. 맥알러는 약  $1.7 \text{ cm}^2/\text{ml}$  내지 약  $2.2 \text{ cm}^2/\text{ml}$ 의 표면적 대 체적 비를 갖는 디바이스를 사용하여 세포 및 백신의 수율이 유의하게 증가된 것을 예기치 않게 발견했다. 또한 맥알러는, 플레이트의 임계 직경 대 내부 탱크 직경 비를 갖거나 또는 플레이트의 주변부와 탱크의 내부 벽 사이의 임계 거리를 갖는 다중 플레이트 전파기를 이용하여 상기 디바이스 중 임의의 디바이스를 사용하여 제조된 세포 및 백신의 수율보다 현저히 더 높은 세포 및 백신의 수율을 얻을 수 있다는 것을 발견했다. 이 임계 직경 비는 바이오텍 유닛의 0.96에 비해 약 0.80 내지 약 0.90, 바람직하게는 약 0.82 내지 약 0.84일 수 있다. 맥알러는 각 단부에 플랜지를 갖는 원통형의 스테인리스 스틸 탱크를 포함하는 전파기를 개시했다.

[0016] 전술된 회전식 장치에서, 대규모 장치가 고려될 때 장치를 수직으로부터 수평으로 이동시킬 필요성이 있다는 것이 실제적 단점이다. 에어 리프트 펌프를 사용하여 성장 매체를 순환시키는 것은 매체에 허용할 수 없는 기포 발생(foaming)이 일어남이 없이는 효율적으로 수행될 수 없는데, 기포가 발생하면 조직 배양 세포의 성장 및 대사에 악영향을 미칠 수 있는 소포체를 첨가할 것을 요구할 수 있기 때문이다. 또한 이렇게 요구되는 느린 회전 속도는 이후에 첨가된 성장 매체 성분 및 다른 시약이 혼합되는 것을 비효율적이게 만들고 이에 혼합이 불량하면 용기 내용물이 균질한 시스템으로 기능하지 못할 수 있는 것을 나타내기 때문에 용기 내 상태를 연속적으로 측정할 수 없게 한다.

[0017] 미국 특허 US4343904에서 버치(Birch) 등은 수평으로부터 적어도  $5^\circ$  기울어져 회전 가능한 축방향 샤프트에 장착된 평행한 이격된 디스크의 스택을 포함하는 수직으로 배치된 원통형 용기에서 동물 세포를 성장시키는 생물 반응기 시스템을 개시했다. 용기는 복수의 입구를 갖는 상부 플레이트 및 출구를 갖는 하부 플레이트에 의해 폐쇄되고, 용기의 내용물을 용기의 하부로부터 용기의 상부로 순환시키기 위한 외부 펌프 루프를 포함한다. 세포가 성장하는 것은, 동물 세포 및 성장 매체의 혼합물을 용기에 실질적으로 채워서, 세포를 디스크 표면 상에 정착시키고 나서, 용기 내용물을 용기의 하부로부터 용기의 상부로 연속적으로 순환시키면서 축방향 샤프트를 적어도 5 rpm의 속도로 회전시킴으로써 수행된다. 이 공정 및 장치는 효율적인 혼합을 제공하고 용기 내에 균질 시스템을 보장한다.

[0018] 미국 특허 번호 US5168058에 개시된 발명은 증식을 위해 고체 표면이 필요한 부착에-의존하는 세포를 재배하는데 사용하기 위한 충전재(packing material)에 관한 것이다. 본 발명의 충전재는 만곡된 시트 물질의 유닛의 형태로 제공되며, 개별 유닛은 일반적으로 약 0.05 mm 내지 0.25 mm의 두께를 가지며, 다른 치수는 1 밀리미터 내지 수 밀리미터 정도의 최대 치수이다. 비틀어진 직사각형, 원통체의 단편, 굴곡진 리본, 비틀어진 형상 등과

같은 다양한 형상이 사용될 수 있다.

[0019] 글렌밀스사(GlenMills Inc.)가 개발한 Z<sup>®</sup>RP 생물 반응기를 갖는 젤베르크(Zellwerk) 세포 배양 시스템은 조립 및 취급이 쉽다. 이 생물 반응기는 일반적으로 관류 모드에서 동작되고 아주 작은 체적에 대량의 세포를 호스팅한다. 중심 부재는, 세포를 매체에 노출시키고 교대로 오버레이(overlay)하는 선택권을 갖는 세포 또는 조직 캐리어와 함께 장착된 자성으로 결합된 회전 축이다. 고도로 다공성인 스폰세라ם(Sponceram)<sup>®</sup> 디스크로부터 임플란트 비계(implant scaffold)에 이르기까지 모든 종류의 지지체를 Z<sup>®</sup>RP 생물 반응기에 설치하여 매우 다양한 종류의 배양 옵션을 만들 수 있다. 모든 구성에서 최상의 폭기(aeration)와 공급물을 제공하는 것을 보장한다. 부드러운 회전 운동은 세포와 조직을 자극하여 전단력에 의한 응력을 받지 않으면서 빠르게 부착 및 증식하도록 한다. 세포 집단은 생존 가능하게 유지될 수 있고 대량의 여분의 세포 매트릭스를 발현한다. 3차원 고밀도로 배배하는 것은 생존력 또는 발현 생산성을 감소시키지 없이 여러 달 연장될 수 있다. 부착 세포를 수확하는 것은 분리 용액과 함께 특정 회전 프로그램을 사용하여 쉽게 달성된다.

[0020] 부착 세포를 위해 적합한 대규모 확장 및 회수 시스템이 없는 것에 응답하여, PALL 라이프 사이언스(life science)는, 서로 상하로 수직으로 장착된 일련의 적층된 디스크 또는 플레이트를 포함하고, 액체 매체는 원통형 용기에 적층된 디스크에 의해 생성된 내부 공간을 통해 흐르는, 새로운 2차원 생물 반응기, 즉 인테그리티(Integrity)<sup>™</sup> 익스팬전(Xpansion)<sup>™</sup> 멀티플레이트 바이오리액터(Multiplate Bioreactor)를 개발했다(원래 ATMI 라이프 사이언스에 의해 개발됨). 넓은 표면적과 다중 플레이트 설계로 인해 시스템은 전통적인 T-플라스크 또는 적층 트레이 방법으로부터 쉽게 적용된 공정으로 대량의 세포를 생산할 수 있다. 익스팬전(Xpansion) 생물 반응기는 T-플라스크에서와 동일한 조건 및 표면에서 부착 세포가 성장할 수 있도록 설계되었다. 세포는 적층된 폴리스티렌 플레이트에 부착되어 성장한다. %DO 및 pH는 O<sub>2</sub> 및 CO<sub>2</sub>의 농도가 제어되는 가스 상(gaseous phase)과 매체가 평형을 이루는 것에 의해 제어된다. 가스는 중심 컬럼에 배치된 매우 얇은 실리콘 튜빙의 벽을 통해 확산된다. 매체의 순환은 적절한 전단 응력 요구 사항에 적응시키기 위해 유속(flow rate)을 제어하는 원심 분리 펌프에 의해 생성된다.

[0021] 소형 크기에서 극히 높은 생산성을 제공할 수 있는 생물 반응기 시스템은 충전 베드 생물 반응기(packed-bed bioreactor: PBR)이다. 충전 베드는 고정된 포유류 세포를 관류 배양하기 위해 널리 사용되어 왔다. 이 발명은 세포 배양 유래 제품을 제조하기 위한 잠재적인 미래의 바람직한 생산 도구로서 PBR의 전망에 초점을 맞추고 있다. PALL 라이프 사이언스는 iCELLis 충전 베드 생물 반응기를 개발했다(원래 ATMI 라이프 사이언스에 의해 개발됨). iCELLis 생물 반응기 기술의 핵심은 맞춤형 매크로 캐리어로 채워진 소형 고정 베드를 사용하는 것이다. 이 매트릭스는 의료용 폴리에스테르 마이크로 섬유로 만들어지며, 세포 성장에 이용 가능한 넓은 표면적을 제공한다.

[0022] 개선된 혼합 상태를 통해 더 높은 세포 밀도 및 향상된 생산성을 달성하는 것이 개선된 것을 제외하고는 효율적인 물질 전달 및 산업적으로 적합한 시스템 확장성은 부분적으로 미해결/미분석된 문제로 남아 있다.

[0023] 시험관 내 세포 배양의 특별한 요구 사항을 인식하고 충족시키는 것이 중요하므로 이에 따라 이러한 요구를 충족시키는 새로운 장치를 설계하는 것이 필수적이다. 이러한 요구에는 배양 동물 세포의 전단 감도, 기포(bubble)의 발생 없는 폭기 사용, 비교적 적은 산소 섭취율, 오염 가능성이나 다른 수동 취급 여러 가능성의 감소로 인한 조작의 편의성 등이 포함된다.

[0024] 그리하여, 유체 또는 임펠러 블레이드(impeller blade)의 전단력 및 가스 기포에 의해 세포를 손상시키지 않으면서 배양 용기 내에서 효율적인 영양분 및 산소를 분포시켜 작은 배양 체적 내에서 배양되는 세포를 고밀도로 성장시킬 수 있는 디바이스 및 방법을 발명하는 것이 절실히 요구된다.

## 발명의 내용

[0025] 본 발명의 주 목적은 효율적인 혼합 및 균질한 부유를 제공할 수 있는 확장 가능하고 바람직하게는 일회용 생물 반응기를 제공하여 세포 및 생물학적 물질을 고밀도로 성장시키고 유지하는 것을 지원하는 생물 반응기 시스템 및 그 방법을 제공하는 것이다.

[0026] 본 발명의 다른 목적은 배양 용기 내에서 배양되는 동물 세포에 가스 살포 없이 조정되는 전단 감도, 기포 없는 폭기, 비교적 적은 산소 섭취율, 및 오염 가능성이나 또는 다른 수동 취급 여러 가능성의 감소로 조작의 용이성을 제공하는 생물 반응기 시스템 및 그 방법을 제공하는 것이다.

- [0027] 본 발명의 또 다른 목적은 인건비 및 생산 시간을 줄이기 위해 살균하여 사용 준비된 일회용 배양 용기를 제공하는 생물 반응기 시스템 및 방법을 제공하는 것이다.
- [0028] 본 발명의 또 다른 목적은 구조가 간단하고 기계적 및 계측의 복잡성을 감소시키며 상업적으로 확장 가능한 생물 반응기 시스템 및 방법을 제공하는 것이다.
- [0029] 본 발명의 또 다른 목적은 배양 용기 내에서 효율적인 혼합 및 영양 균질성을 유지하면서 작은 배양 체적 내에서 다량의 표면적을 수용할 수 있는 생물 반응기 시스템 및 그 방법을 제공하는 것이다.
- [0030] 본 발명의 또 다른 목적은 pH, 용존 산소, 온도 등과 같은 공정 변수에 대한 인-라인 모니터링 및 제어를 제공하는 생물 반응기 시스템 및 방법을 제공하는 것이다. 영양분, 대사 부산물 및 공급물 첨가량을 측정하기 위한 온라인 샘플링을 실행 가능할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 또 다른 목적은 배양 용기 내에 함유된 영양 매체가 지지 매트릭스의 움직임을 방해하거나 방해함이 없이, 교환, 샘플링 또는 변형될 수 있는 생물 반응기 시스템 및 그 방법을 제공하는 것이다.
- [0032] 본 발명의 또 다른 목적은 하나 이상의 화학적 화합물을 제조하는데 사용되는 생물 반응기 시스템 및 방법을 제공하는 것이다.
- [0033] 본 발명의 또 다른 목적은 폐수 유출물을 처리하고 산업 폐수를 재생 처리하는데 사용되는 생물 반응기 시스템 및 방법을 제공하는 것이다.
- [0034] 본 발명의 또 다른 목적은 다양한 기질 및 화합물을 효소 처리하는데 사용되는 생물 반응기 시스템 및 그 방법을 제공하는 것이다.
- [0035] 본 발명은 세포 또는 생물학적 물질을 지지 매트릭스 상에 직접 배양, 포획 또는 캡슐화함으로써 생물학적 물질을 취급하고 생물학적 세포를 대규모로 연속적으로 또는 회분식으로 배양하는 것을 지원하는 생물 반응기 시스템 및 이를 동작시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 생물 반응기 시스템은 배양 용기, 지지 매트릭스, 유체 펌핑 수단, 가스 교환 모듈, 및 영양 매체의 폐순환 루프를 형성하기 위한 주 도관을 포함한다. 상기 지지 매트릭스는 배양 용기의 내부에 배치된다. 지지 매트릭스는 적어도 하나의 중심 샤프트, 및 상기 중심 샤프트를 반경 방향으로 둘러싸고 있는 복수의 주변 샤프트를 포함한다. 상기 중심 샤프트 및 주변 샤프트는 지지 프레임워크 및 샤프트 장착 프레임에 의해 회전 가능하게 지지된다. 본 발명에서, 복수의 디스크가 샤프트를 따라 장착되어 2개의 연속적인 플레이트 사이에 중간 공간(interspatial space)을 형성한다. 따라서, 주변 샤프트 상에 장착된 디스크는 중심 샤프트의 연속적인 디스크들 사이에 형성된 중간 공간 내에서 회전되어, 충분한 혼합을 보장하고, 디스크가 샤프트 상에 서로 밀접하게 떨어져 장착될 때 생성될 수 있는 정체된 유체 영역이 발생하는 것을 회피한다. 또한, 복수의 디플렉터 베인(deflector vane)이 중심 샤프트의 길이를 따라 축방향으로 제공되어 실질적으로 동축 방향의 유체 흐름을 배양 용기의 내부로, 보다 구체적으로 중심 축을 향해 재지향시킨다. 따라서, 본 발명에 따른 생물 반응기 시스템은 효율적인 혼합 및 균질한 부유를 제공할 수 있는 확장 가능하고 바람직하게는 일회용 생물 반응기를 제공하여 세포 및 생물학적 물질의 고밀도 성장 및 유지를 지원한다.

### 도면의 간단한 설명

- [0036] 본 발명의 목적 및 장점은 첨부된 도면과 관련하여 취해진 이하 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다.
- 도 1a는 본 발명에 따른 수평으로 배향된 배양 용기를 갖는 생물 반응기 시스템의 사시도를 도시한다.
- 도 1b는 도 1a에 도시된 생물 반응기 시스템의 개략도를 도시한다.
- 도 2a는 본 발명에 따른 수직으로 배향된 배양 용기를 갖는 생물 반응기 시스템의 개략도를 도시한다.
- 도 2b는 수직으로 배향된 배양 용기 및 가스 교환 수단을 갖는 재순환 루프를 갖는 생물 반응기 시스템의 개략도를 도시한다.
- 도 3은 본 발명에 따라 지지 매트릭스가 내부에 적재된(loaded) 도 1에 도시된 배양 용기의 단면도이다.
- 도 4a 및 도 4b는 본 발명에 따라 지지 매트릭스 내에 적재된 지지 프레임워크의 상세도를 도시한다.
- 도 4c는 본 발명에 따른 샤프트 구동 기구의 사시도를 도시한다.
- 도 5는 본 발명에 따라 샤프트의 길이를 따라 적재된 디스크의 배열을 도시한다.

도 6은 본 발명에 따라 디스크가 적재된 중심 샤프트 및 주변 샤프트의 배열을 도시한다.

도 7a 및 도 7b는 본 발명에 따라 지지 매트릭스 내에 중심 샤프트 및 주변 샤프트를 둘러싸는 상이한 기하학적 형상으로 디플렉터 베인들을 배열한 것을 도시한다.

도 8a 내지 도 8f는 본 발명에 따라 지지 매트릭스 내에 상이한 기하학적 구조로 중심 샤프트 및 주변 샤프트를 배열한 것을 도시한다.

도 9는 본 발명에 따라 추가적인 포트 및 도관을 갖는 배양 용기의 단면도를 도시한다.

도 10a 및 도 10b는 본 발명에 따라 수평으로 배향된 지지 매트릭스 및 센서 요소를 갖는 배양 용기의 상세 단면도 및 사시도를 도시한다.

도 11a 및 도 11b는 샤프트 상에 적재된 디스크의 단면도 및 기하학적 배열을 도시한다.

도 12a, 도 12b, 도 12c 및 도 12d는 본 발명에 따라 디스크 형태의 상업적으로 이용 가능한 세포 캐리어를 사용한 것을 도시한다.

도 13은 본 발명에 따라 중심 샤프트 및 주변 샤프트 상에 적재된 디스크의 회전 패턴 및 회전 방향을 도시한다.

도 14a 및 도 14b는 본 발명에 따라 지지 매트릭스 내에 선형 및 비틀어진 디플렉터 베인을 배열한 것의 상세도를 도시한다.

도 14c는 배플 장착 링(baffle mounting ring)을 갖고 임펠러 베인을 포함하는 비틀어진 디플렉터 베인의 사시도를 도시한다.

도 15a, 도 15b 및 도 15c는 본 발명에 따라 하부에 위치한 샤프트 회전을 위한 자성 회전 수단 및 용기의 상부에 위치한 배플 장착 플레이트를 위한 배플 회전 수단을 갖는 수직으로 배향된 배양 용기의 상세도를 도시한다.

도 16a, 도 16b 및 도 16c는 본 발명에 따라 상부에 위치한 샤프트 회전을 위한 자성 회전 수단 및 용기의 하부에 위치한 배플 장착 플레이트를 위한 배플 회전 수단을 갖는 수직으로 배향된 배양 용기의 상세도를 도시한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 본 발명을 상세히 설명하기 전에, 본 발명은 그 적용 시 첨부 도면에 도시된 부품의 구성 및 배열의 세부 사항으로 제한되지 않는 것으로 이해된다. 본 발명은 전술한 상이한 도면에 도시된 바와 같이 다른 실시예도 가능하고 다양한 방식으로 실시되거나 수행될 수 있다. 본 명세서에 사용된 어구 및 용어는 본 발명을 설명하기 위한 것이지만 본 발명을 제한하기 위한 것이 아닌 것으로 이해된다.

[0038] 또한, 본 명세서에서 사용된 "생물학적 물질"이라는 어구는 하나 이상의 유기체, 세포 및/또는 바이러스로부터 유도되거나 또는 이에 대응하는 임의의 입자(들), 물질종(들), 추출물(들), 혼합물 및/또는 조립체를 의미하지만, 이들로 제한되지 않는 것으로 이해된다. 자동화된 세포 관리 시스템에서 배양될 수 있는 세포는 동물 세포, 곤충 세포, 포유류 세포, 인간 세포, 유전자 이식 세포, 유전자 조직 세포, 형질 전환된 세포, 세포주, 식물 세포, 부착에-의존하는 세포, 및 부착에-독립적인 세포, 및 이 기술 분야에 알려진 시험관 내에 배양될 수 있는 다른 세포를 포함하지만 이들로 제한되지 않는 하나 이상의 세포 유형을 포함한다는 것을 이 기술 분야에 통상의 지식을 가진 자에게는 명백할 것이다. 생물학적 물질은 또한 유체(예, 물), 완충액, 배양 영양분, 염분, 다른 시약, 염료 등과 같은 분석을 용이하게 하기 위한 추가 성분을 포함할 수 있다. 따라서, 생물학적 물질은 배양 매체 내에 배치된 하나 이상의 세포 및/또는 다른 적합한 유체 매체를 포함할 수 있다. 본 명세서에서 사용된 "디스크 또는 플레이트"라는 어구는 세포, 단백질 및 다른 생화학적 및 화학적 물질종을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 입자 등을 부착, 포획 또는 캡슐화를 하기 위한 표면적을 제공할 수 있는 임의의 기하학적 형상의 물질을 나타내지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0039] 본 명세서에 사용된 "일회용"이라는 어구는 일단 사용되면 본질적으로 폐기되고 다른 목적으로 재사용되지 않는 임의의 공정 적합한 물질을 의미하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 본 명세서에 사용된 "일회용 물질 또는 일회용 필름"이라는 용어는 예를 들어 필름 압출 및/또는 발포 공정, 예를 들어, 주조 필름 또는 취입 필름 압출 공정을 사용하여 제조된 다층의 중합체 필름 및 열가소성 필름을 포함하는 중합체 필름을 의미한다. 본 발명을 위해, 이 용어는 비 다공성 필름 및 마이크로 다공성 또는 매크로 다공성 필름을 포함한다. 필름은 증기 투과성 또는 불투과성일 수 있으며, 정상적인 사용 조건에서 액체 장벽 및/또는 가스 장벽으로 작용한다. 본 명세

서에서 사용된 "중합체" 또는 "중합체 물질"이라는 어구는 호모 중합체, 공중합체, 예를 들어, 블록, 그래프트, 랜덤 및 교대 공중합체, 삼원 공중합체 등, 및 이들의 블렌드 및 개질을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 또한, 달리 구체적으로 제한되지 않는 한, "중합체"라는 용어는 물질의 모든 가능한 기하학적 구성을 포함한다. 이러한 구성은 동일배열(isotactic), 교대배열(syndiotactic) 및 혼성배열 대칭(atactic symmetry)을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 본 발명에 사용되는 중합체는 천연, 합성, 생체 적합성 및/또는 생분해성일 수 있다. "천연 중합체"란 용어는 예를 들어, 실크, 콜라겐 기반 물질, 키토산, 히알루론산 및 알긴산염을 포함하는, 자연 발생적인 임의의 중합체를 의미한다. "합성 중합체"라는 용어는 중합체가 자연 발생 생체 물질로 만들어진 것이라 하더라도 자연에서 발견되지 않는 임의의 중합체를 의미한다. 예로는 지방족 폴리에스테르, 폴리(아미노산), 코폴리(에테르에스테르), 폴리알킬렌, 옥살레이트, 폴리아미드, 티로신 유도 폴리카보네이트, 폴리(이미노카르보네이트), 폴리오르쏘에스테르, 폴리옥사에스테르, 폴리아미도에스테르, 아미노기를 함유하는 폴리옥사에스테르, 폴리(무수물), 폴리포스포젠 및 이들의 조합을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. "생체 적합성 중합체"라는 용어는, 유기체의 세포, 조직 또는 체액과 접촉할 때 면역 반응 및/또는 거부 반응 등과 같은 부작용을 유발하지 않는 임의의 중합체를 의미한다. "생분해성 중합체"라는 용어는 프로테아제와 같은 생리적 환경에서 분해될 수 있는 임의의 중합체를 나타낸다. 생분해성 중합체의 예는, 콜라겐, 피브린, 히알루론산, 폴리락트산(PLA), 폴리글리콜산(PGA), 폴리카프로락톤(PCL), 폴리디옥사논(PDO), 트리메틸렌 카보네이트(TMC), 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 알긴산염, 키토산 또는 이들의 혼합물을 포함한다.

[0040] "적합한 물질"이라는 용어는 예를 들어 필름, 중합체, 열가소성 중합체, 호모 중합체, 공중합체, 블록 공중합체, 그래프트 공중합체, 랜덤 공중합체, 교대 공중합체, 삼원 공중합체, 메탈로센 중합체, 부식포 식물, 스펠본드 섬유, 멜트블로운 섬유, 폴리셀룰로오스 섬유, 폴리에스테르 섬유, 폴리우레탄 섬유, 폴리올레핀 섬유, 폴리아미드 섬유, 면섬유, 코폴리에스테르 섬유, 개방 셀 발포체, 폴리우레탄, 폴리비닐 염화물, 폴리에틸렌, 금속, 합금, 유리 섬유, 유리, 플라스틱(예를 들어, 폴리에틸렌(PE), 폴리프로필렌(PP), 폴리비닐 염화물(PVC), 폴리에틸렌 테레프탈레이트(PET), 폴리에테르에테르케톤(PEEK) 및 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE) 및 폴리플루오로알콕시(PFA) 유도체), 고무, 및 이들의 조합 또는 혼합물을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 적합한 강성 중합체는 USP 등급 VI 승인된 폴리카보네이트와 폴리스티렌을 포함하지만 이들로 제한되는 것은 아니다. 적합한 가요성 중합체는 저밀도 폴리에틸렌 및 에틸렌/비닐 아세테이트 공중합체를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

[0041] "세포 배양" 또는 "배양"이란 인위적인 시험관 내 환경에서 세포를 유지 관리하는 것을 의미한다. 그러나, "세포 배양"이라는 용어는 일반적인 용어이며, 개별 세포뿐만 아니라 조직, 기관(organ), 기관 시스템 또는 전체 유기체를 재배하는 것을 포함하는 데 사용될 수 있는 것으로 이해되고, 여기서 "조직 배양", "기관 배양", "기관 시스템 배양" 또는 "기관형 배양"이라는 용어는 때때로 "세포 배양"이라는 용어와 상호 교환 가능하게 사용될 수 있다.

[0042] "재배"란 활성 또는 정지 상태에서 세포의 성장, 분화 또는 지속된 생존을 촉진하는 조건 하에서 시험관 내에서 세포를 유지하는 것을 의미한다. 이러한 의미에서, "재배"는 전술된 "세포 배양" 또는 그 동의어 중 임의의 것과 상호 교환 가능하게 사용될 수 있다.

[0043] "영양 매체", "세포 배양 매체" 및 "배양 매체"라는 용어는 세포를 재배하기 위한 영양 용액을 지칭하며 상호 교환 가능하게 사용될 수 있다.

[0044] 본 발명은 배양 용기 내에 포함된 지지 매트릭스 내에 배열된 디스크 상에서 직접 세포 또는 생물학적 물질을 전파, 배양, 포획 또는 캡슐화함으로써 생물학적 물질을 취급하거나 및/또는 생물학적 세포를 대규모로 배양하는 것을 지원하는 시스템, 방법 및 장치를 제공한다.

[0045] 이제 도 1에 도시된 제1 실시예에 도시된 바와 같이, 본 발명에 따른 생물학적 세포를 배양하기 위한 생물 반응기 시스템은, 수평으로 배열된 배양 용기(1)로서, 영양(배양) 매체 및/또는 생물학적 세포를 도입하기 위한 입구 포트(1a) 및 용기(1)로부터 영양(배양) 매체를 배출하기 위한 출구 포트(1b)를 구비하는 상기 배양 용기(1); 상기 배양 용기(1)(도 1b에 도시)의 내부에 길이방향으로 배치되어 재배 공정이 일어나는 지지 매트릭스(2)로서, 상기 지지 매트릭스의 양 단부는 영양 매체가 입구 포트(1a)를 통해 배양 용기 내로 도입되고 나서 지지 매트릭스(2)를 통과한 후에 배양 용기(1)로부터 출구 포트(1b)를 통해 배출되도록 회전 가능하게 고정되어 있는, 상기 지지 매트릭스(2); 영양 매체를 용기(1)를 통해 구동하는 유체 펌프 수단(3); 가스를 폐 가스로 분해하고 영양 매체로부터 폐 가스를 제거하기 위한 가스 교환 모듈(4); 및 영양 매체를 순환시키기 위해 폐쇄된 외부 루프(화살표 A로 도시됨)를 형성하도록 상기 입구 포트(1a) 및 출구 포트(1b)를 유체적으로 및 외

부적으로 연결하고 가스 교환 모듈(4) 및 유체 펌핑 수단(3)을 통해 연장되는 주 도관(5)을 주로 포함한다. 재순환 루프(A)는 본질적으로 실리콘 튜빙, 하나 이상의 유체 저장조, 하나 이상의 펌핑 수단, 및 재순환 유체(영양 유체)와 가스 상 사이에서 가스의 효과적인 물질 전달을 위해 하나 이상의 가스 교환 모듈(4)을 포함한다. 유체 재순환 시스템에서 압력 지시기 및 조절기, 지지 매트릭스 및 배플 수단 내에 적재된 디스크를 회전시키기 위한 운동 에너지원, 하나 이상의 센싱 소자, 공정 제어 수단, 가변 속도 펌프 및/또는 고정 속도 펌프(도시되지 않음)를 사용하는 것은 본 발명의 범위 내에 있다. 영양 유체는 유체 출구 포트(1b)를 통해 배출되고 나서, 유체 펌핑 수단(3)을 통해 가스 교환 수단(4)으로부터 통과하고 나서, 입구 포트(1a)를 통해 배양 용기(1)로 공급되어 주 도관(5)을 통해 폐순환 루프(A)를 형성한다. 상기 가스 교환 수단(4)은 산소를 이산화탄소로 변환하고 영양 매체로부터 이산화탄소를 제거할 수 있다.

[0046] 바람직하게는 재순환 루프의 구성 요소들을 배양 용기의 입구 및 출구에 연결하기 위해 짧은 신장의 실리콘 튜빙을 주 도관(5)으로 사용할 수 있다. 이러한 튜빙은 유체를 내부로부터 자유롭게 통과시키고 하나의 구성 요소로부터 다른 구성 요소로 유체를 전달한다. 다양한 길이 및 직경의 실리콘 튜빙은 본 발명에 따른 동작 규모 및 공정 적용의 성질에 따라 사용될 수 있다.

[0047] 도 2a 및 도 2b에 도시된 본 발명의 또 다른 실시예에서, 생물 반응기 시스템은, 수직으로 배향되고 입구 포트(1a), 출구 포트(1b)를 포함하는 배양 용기(1); 상기 배양 용기(1)의 내부에 길이방향으로 및 실질적으로 수직으로 배치된 지지 매트릭스(2)로서, 상기 지지 매트릭스의 양 단부는 유체가 입구 포트(1a)를 통해 배양 용기 내에 도입되고 나서 지지 매트릭스(2)를 통과한 후 배양 용기(1)로부터 출구 포트(1b)를 통해 배출되어 용기를 부분적으로 채워 오버레이 상위 공간(headspace)을 생성하도록 회전 가능하게 고정되어 있는, 상기 지지 매트릭스(2); 유체 펌핑 수단(3); 가스 교환 수단(4); 및 상기 입구 포트(1a) 및 출구 포트(1b)를 유체적으로 및 외부적으로 연결하여 영양 매체를 순환시키기 위해 폐쇄된 외부 루프(화살표 A로 도시)를 형성하고 가스 교환 모듈(4)과 유체 펌핑 수단(3)을 통해 연장되는 주 도관(5)을 주로 포함한다.

[0048] 이제 도 3 및 도 4a 내지 도 4c에 도시된 바와 같이, 지지 매트릭스(2)는 본질적으로, 중공 중심(6a), 및 중공 중심(6a)으로부터 반경방향으로 연장되어 내부 원형 플레이트(6c)를 형성하는 스포크(spoke)(6b), 및 원형 플레이트(6c)로부터 반경 방향으로 연장되어 복수의 노치를 갖는 배플 지지 프레임(6e)을 형성하는 스포크(6d)를 구비하는 지지 프레임워크(6)로서, 상기 지지 프레임워크(6)는 용기(1)의 내부 벽에 회전 가능하게 고정되고, 상기 용기(1)의 일 단부에 인접하여 위치된, 상기 지지 프레임워크(6); 상기 용기(1)의 다른 단부에 바람직하게 장착되는 샤프트 장착 프레임(7)으로서, 중공 중심(7a), 및 상기 중공 중심(7a)으로부터 반경방향으로 연장되어 외부 원형 플레이트(7c)를 한정하는 스포크(7b)를 구비하는 샤프트 장착 프레임(7); 상기 지지 프레임워크(6)와 실질적으로 유사한 직경을 갖고 상기 샤프트 장착 프레임(7)에 인접하여 회전 가능하게 위치된, 중공 중심(8a)을 갖는 배플 장착 플레이트(8); 상기 지지 프레임워크(6), 상기 샤프트 장착 프레임(7), 및 상기 배플 장착 플레이트(8)의 중공 중심으로부터 축방향으로 연장되는 적어도 하나의 회전 가능한 중심 샤프트(9); 상기 중심 샤프트(9)의 축에 대해 반경방향으로 그리고 평행하게 장착된 복수의 회전 가능한 주변 샤프트(10)(파선으로 도시됨)로서, 각각의 상기 주변 샤프트(10)는 양 단부에서 상기 내부 원형 플레이트(6c)와 상기 외부 원형 플레이트(7c) 사이에서 앵커링되어 상기 복수의 주변 샤프트(10)가 상기 중심 샤프트(9)를 반경 방향으로 둘러싸도록 하는, 상기 복수의 회전 가능한 주변 샤프트(10); 및 상기 중심 샤프트(9) 및 각각의 주변 샤프트(10)(도 5 및 도 6에 도시됨)의 길이를 따라 길이방향으로 장착된 복수의 이격된 디스크(11)를 포함한다. 상기 지지 프레임워크(6)는 적절한 인장 강도를 갖고, 상기 샤프트를 실질적으로 저 마찰로 회전 가능하게 지지한다. 중심 샤프트(9)의 단부들은 중공 중심을 통해 배양 용기(1)의 상류 단부 및 하류 단부 쪽으로 더 연장된다.

[0049] 본 발명의 바람직한 실시예에서, 시스템은 중심 샤프트(9) 주위에 6개의 동축으로 배열된 주변 샤프트(10)를 포함한다는 것이 주목된다. 그러나, 도 8에 도시된 바와 같이 더 많거나 더 적은 수의 주변 샤프트가 상이한 기하학적 배열로도 장착될 수 있는 것은 본 발명의 범위 내에 있다.

[0050] 도 3 및 도 4a를 계속 참조하면, 배양 용기(1) 내에서 혼합 상태를 향상시키기 위해 상기 지지 매트릭스(2)는 주변 샤프트(10)를 반경방향으로 둘러싸서 배양 용기(1)의 축방향 길이를 따라 연장되는 복수의 디플렉터 베인(배플링 수단)(12)을 더 포함한다. 각각의 디플렉터 베인(12)의 일 단부는 배플 장착 플레이트(8) 상에 몰딩되고, 각 베인(12)의 다른 단부는 반대쪽에서 지지 프레임워크(6)의 배플 지지 프레임(6e)의 대응하는 노치에 의해 수용되어 이에 의해 복수의 주변 샤프트(10)를 실질적으로 둘러싼다. 디플렉터 베인(12)은 바람직하게는 배플 지지 프레임(8)의 근-중심(pericentric) 외부 표면으로부터 실질적으로 약 45°의 각도를 이룬다. 상기 중심 샤프트(9) 및 주변 샤프트(10)의 회전은 샤프트의 길이를 따라 장착된 디스크(11) 및 배플 디플렉터 베인(12)이 회전하게 한다. 주변 샤프트들이 중심 샤프트(9)를 둘러싸도록 위치되지 않는 경우, 중심 샤프트 디스크

(11)는 배플링 수단(도 8a에 도시됨)으로서 하나 이상의 디플렉터 베인에 의해 직접 둘러싸이는 것은 본 발명의 범위 내에 있다.

[0051] 바람직한 실시예에 따른 배양 용기(1)는 바람직하게는 지지 매트릭스(2)를 실질적으로 둘러싸는 폐쇄된 원통형 컨테이너 형상이다. 일반적으로 원통형 형상으로 도시되어 있지만, 배양 용기(1)의 형상은 다양한 형상(예를 들어, 평행육면체)의 용기가 제공될 수 있기 때문에 이로 제한되지 않는다. 본질적으로, 본 발명의 배양 용기는 배양 챔버, 원통형, 직사각형, 또는 취급이 용이한 임의의 다른 형상으로 제공된다. 동작 동안, 배양 용기는 바람직하게는 수평 축을 따라 배향될 수 있지만, 수직 배향 및 다른 축방향 배향은 후술되는 바와 같이 공정 요구에 따라 가장 적합할 수 있다. 주어진 실시예에서, 지지 매트릭스(2)는 실질적으로 용기(1)에 의해 둘러싸여 있지만, 배양 용기(1)에 의해 상기 지지 매트릭스(2)를 부분적으로 덮는 것은 본 발명의 범위 내에 있다. 나아가, 또한, 배양 용기(1) 내에 덮여 있지도 않고 포함되어 있지도 않은 지지 매트릭스(2)를 이용하는 것도 본 발명의 범위 내에 있다.

[0052] 본 발명에 따른 생물 반응기 시스템은 바람직하게는 플루오로 중합체, 고밀도 폴리프로필렌(HDPE) 및 특수 처리된 폴리스티렌 플라스틱과 같은 적절한 중합체 물질로 제조된 일회용 형태의 살균된 단일-사용 생물 반응기이다. 특정 실시예에서, 시스템의 하나 이상의 부분은 유리, 스테인리스 스틸 및/또는 다른 생체 적합성 물질로 제조될 수 있다.

[0053] 또한, 본 발명에 따른 배양 용기(1)는 바람직하게는 플라스틱, 금속, 유리, 세라믹 등을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 살균 기술을 견딜 수 있는 다양한 종류의 적합한 물질로 제조된다. 배양 용기의 직경과 길이는 공정 조건과 규모에 따라 결정된다. 본 발명에 따른 배양 용기, 지지 매트릭스 및 다른 배양물 접촉 부분은 교차 오염과 관련된 위험을 줄이기 위해 바람직하게는 발열 물질이 없고 살균 가능한 물질로 제조된다.

[0054] 바람직한 실시예에서, 일회용 배양 용기(1)는, 사용 전후의 용기 내용물의 육안 검사를 가능하게 하고, 생물 반응기가 동작할 때 내부 공정 조건을 탐색할 수 있도록 실질적으로 또는 완전히 투명한 강성 플라스틱 물질로 제조된다. 모든 밸브 및 도관 부착물은 밀폐되고 여과되어 전체 용기에서 공기/액체가 밀봉되어 누출되지 않도록 한다. 용기의 다양한 패널은 열, 높은 무선 주파수 또는 다른 기술을 사용하는 플라스틱 필름 밀봉 기술에 의해 기밀 및 수밀 이음을 형성하도록 서로 밀봉된다. 그런 다음, 커넥터, 튜빙, 필터 및 클로저(closure)가 용기에 부착되어 살균 장벽을 만든다. 조립된 용기는 예를 들어, 개별 배양 용기를 감마선 조사, 바람직하게는 25K 그레이(gray) 내지 50K 그레이에 노출시킴으로써 살균될 수 있다. 일회용 배양 용기를 구성하기에 적합한 물질은 공정 적합성에 따라 원하는 두께를 갖는 폴리에틸렌 또는 폴리비닐리덴 플루오라이드(PVDF)로 제조된 필름을 포함하는 다층 또는 단층 플라스틱 필름을 포함한다. 대안적으로, 용기는 예를 들어 폴리에틸렌 테레프탈레이트 글리콜(PETG) 또는 폴리카보네이트와 같은 적절한 플라스틱을 사출 성형하여 형성되고 보조 구조물에 의해 지지되거나 지지되지 않을 수 있는 비교적 강성의 용기를 포함할 수 있다.

[0055] 또 다른 실시예에서, 배양 용기(1)는 다층의 강성 플라스틱 물질로 제조되는 것이 바람직하며, 용기 벽의 내측면은 용기 몸체 내에 밀봉된 가스 투과성 멤브레인/물질 또는 튜빙 패치를 갖게 구성되며, 이에 의해 생물 반응기가 동작할 때 추가적인 가스 교환 및 물질 전달 소스가 통합될 수 있다. 일회용 플라스틱 용기의 벽은 다층 적층 구조를 포함할 수 있다. 상이한 물질의 복수의 층이 함께 적층되어 원하는 기능을 제공할 수 있다. 에틸렌 비닐 알코올(EVOH)과 같은 물질로 형성된 하나 이상의 가스 장벽 층이 포함될 수 있다. 결합 층은 상이한 물질 층들 사이에 제공될 수 있다. 물질의 선택은 용기의 벽이 배양 용기 내에서 채워지는 유체 및 내용물의 체적을 유지하기에 충분한 강도를 얻는 것에 기초한다. 접합되거나 접합되지 않은 구역을 갖는 하나 이상의 에어 갭이 다층 또는 복합 강성 필름에 제공될 수 있다. 이에 의해 용기 벽 내에서 생성/물당된 에어 갭 채널은 지지 매트릭스를 덮는 용기의 원통형 벽의 길이를 따라 연장된다. 이 에어 갭 채널은 공기, 산소, 이산화탄소, 질소 등과 같은 가스를 생물 반응기로 유입시키는 가스 입구, 및 미생물 또는 세포에 의해 생성된 이산화탄소와 같은 가스를 제거하기 위한 가스 출구에 집합적으로 연결된다. 용기 벽의 에어 갭 채널로부터 원하는 가스의 흐름은 배양 용기 내의 유체와 가스 사이에 물질을 전달하기 위한 추가적인 수단을 제공한다. 바람직한 다층 적층물은 폴리아미드 외부 층, 제1 결합 층, 폴리에틸렌 또는 폴리에틸렌 블렌드/공중합체 층, 제2 결합 층, EVOH(가스 장벽) 층, 제3 결합 층, 다른 폴리에틸렌 또는 폴리에틸렌 블렌드/공중합체 층, 에어 갭, 및 이후 실리콘 멤브레인을 포함하는 가스 투과성 폴리에틸렌 또는 폴리에틸렌 블렌드/공중합체 층을 포함하는 내부 접촉 층을 포함한다.

[0056] 또한 다른 실시예에 따르면, 배양 용기(1)는 유리 또는 임의의 다른 화학적으로 비 반응성인 생체 적합성 물질, 예를 들어, 세라믹, 스테인리스 스틸 등과 같은 물질로 제조될 수 있지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 배양 용기가 비-일회용 용기로 사용될 경우, 지지 매트릭스(2)는 수동으로 또는 자동화된 기계를 사용하여 제 자리에

조립될 수 있다. 바람직하게는, 지지 매트릭스의 하나 이상의 부분은 일회용일 수 있다. 지지 매트릭스를 에워싸고 배양 용기를 조립한 후에, 생물 반응기 시스템은 임의의 적합한 살균 방법, 바람직하게는 증기 살균에 의해 살균될 수 있다. 대안적으로, 배양 용기 내에 에워싸인 지지 매트릭스는 미리 충전된 일회용 형태일 수 있고 여기서 가요성 외부 커버를 갖는 지지 매트릭스는 비-일회용 배양 용기 내에 배치될 수 있다. 이 경우, 지지 매트릭스의 외측 덮개는 격리 장벽으로 작용하고, 임의의 적합한 유형의 임의의 신축성, 접힐 수 있는, 유연한 및/또는 탄성 물질로 만들어지며, 배양 용기는 적합한 물질로 제조될 수 있는 지지 용기로서 작용한다.

[0057] 도 2a 및 도 2b에 도시된 바와 같이, 회전 운동을 얻기 위해, 중심 샤프트(9)는 운동 에너지원(19)으로부터 운동 에너지를 수용하기 위해 기계적으로 결합된다. 여기서, 샤프트를 회전시키기 위한 하나 이상의 자성 회전 수단(13) 및 배플 수단을 회전시키기 위한 하나 이상의 자성 회전 수단이 도 2에 도시된 바와 같이 외부 운동 에너지원으로부터 운동 에너지를 수용하기 위해 사용된다. 그러나, 상기 운동 에너지원은 기계적 밀봉을 갖는 모터, 하나 이상의 서보, 피스톤, 솔레노이드, 선형 또는 회전식 액추에이터 및 외부 전자기 또는 자성 수단 등을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 적재된 샤프트의 원활한 회전을 돕기 위해, 베어링(도시되지 않음) 형태의 마찰력을 감소시키는 수단이 샤프트 단부와 프레임워크(6)의 접합부에서 지지 프레임워크(6) 상에 장착된다.

[0058] 상기 자성 회전 수단(13)은 도 2 및 도 3에 도시된 바와 같이 회전 가능한 중심 샤프트의 적어도 일 단부에 고정 연결된 내부 자석(도시되지 않음)을 포함한다. 내부 자석은 바람직하게는 외부 자성 기구에 의해 가해지는 자기력에 의해 회전된다. 따라서 외부 자석의 회전은 내부 자석 및 이에 의해 회전 가능한 샤프트를 회전시킨다. 용기의 작은 패치를 외부에서 덮는 전기적으로 동작하는 자성 회전 수단이 내부 자석에 자성 가속을 제공하도록 이식될 수 있다. 이 자성 회전 수단은 기계적 밀봉을 사용하는 것을 제거하여 이에 의해 외래 오염원으로부터 추가적인 안전 레벨을 제공한다. 회전 수단의 다른 실시예에서, 중심 샤프트(9)는 모터 샤프트를 통해 생물 반응기의 외부에 위치한 모터에 직접 연결된다. 모터의 샤프트는 기계적 밀봉 디바이스를 사용하여 용기 벽에 침투(invade)하고, 트랜스미션 시스템은 중심 샤프트와 모터의 샤프트를 연결하는 데 사용된다. 공정 및 경제성의 적합성에 따라 다른 기구 또는 기구의 조합을 사용할 수 있다.

[0059] 이제 도 5는 중심 샤프트(9) 및 주변 샤프트(10) 상에 디스크를 배열한 것을 도시한다. 도 5에 따르면, (투과성) 디스크(11)는 스페이서(도시되지 않음)를 통해 2개의 연속적인 디스크(11) 사이에 미리 결정된 공간을 유지하여 중간 공간(11a)을 형성함으로써 각 샤프트에 중심에 및 길이방향으로 장착된다. 디스크들 사이에 배치된 상기 스페이서는 디스크(11)들을 실질적으로 등거리 간격으로 분리하여 유지한다. 바람직하게는, 스페이서는 디스크(11)의 구성에 사용되는 것과 유사한 물질로 제조되거나 또는 스페이서는 실리콘 고무로 제조될 수 있다. 스페이서 직경과 디스크 직경의 비율은 공정 규모에 따라 최적화되어야 한다. 추가적으로, 도 11b에 기술된 바와 같이, 디스크들을 지지하고 분리하는 다른 수단이 사용될 수 있는데; 예를 들어, 각각의 디스크는 그 중심 부분에서 그 구성 동안 일체로 형성된 리지(ridge) 또는 스페이서를 갖지만, 이로 제한되는 것은 아니다. 이 리지 또는 스페이서는 이에 바로 인접해서 디스크의 스페이서 상에 놓인다. 각 디스크 사이에 원통형 스페이서가 존재하면 본질적으로 샤프트에 장착된 디스크들이 동작하는 동안 분리된 상태에 있는 것을 보장한다. 생물 반응기의 디스크 적재 용량을 최대화하고 지지 매트릭스의 원하는 소형화를 달성하기 위해, 중심 샤프트 상에 적재된 디스크의 직경 대 주변 샤프트 상에 적재된 디스크의 직경의 비를 조절할 수 있다. 바람직하게는, 중심 샤프트 상에 적재된 디스크의 직경은, 디스크의 뒤섞임(intermingling)을 최대화하고, 주변 샤프트 상에 적재된 디스크에 의해 중심 샤프트 디스크들 사이에 생성된 중간 공간을 효율적으로 점유하기 위해, 주변 샤프트 상에 장착된 디스크의 직경보다 더 크다.

[0060] 도 6은 지지 매트릭스(2) 내의 주변 샤프트(10) 및 중심 샤프트(11) 상에 적재된 디스크의 배열을 도시한다. 도 6으로부터, 각각의 주변 샤프트 상에 적재된 각각의 디스크(11)의 부분은 중심 샤프트(9) 상에 적재된 디스크의 중간 공간(11a) 내로 부분적으로 연장되는 것을 볼 수 있다.

[0061] 본 발명에 따른 디스크(11)는 바람직하게는 부직포 섬유 물질로 구성되지만, 이로 제한되는 것은 아니다. 도 11은 세포 부착 및 이후 성장을 위해 요구되는 기층(substratum)을 본질적으로 제공하는 디스크 또는 플레이트(11)의 기하학적 형상을 도시한다. 세포 부착은 디스크의 양면에서 발생할 수 있어서 이에 의해 작은 공간 또는 체적 내에 세포의 부착 및 성장을 위한 매우 큰 표면적을 제공한다. 전형적으로, 세포 성장의 얇은 단일층 또는 필름이 디스크 표면 상에 관찰되며, 일반적으로 수  $\mu\text{m}$ , 예를 들어, 1  $\mu\text{m}$ 로부터 약 1 mm의 두께, 즉 100  $\mu\text{m}$ 의 두께를 갖는다. 세포가 다층으로 또는 구조적으로 성장하는데 요구하는 응용의 경우, 디스크(11)는 원하는 형상으로 몰딩되고, 표면은 물리적으로, 화학적으로 또는 생물학적으로 처리함으로써 생성될 수 있다.

- [0062] 도 12a 내지 도 12d에 도시된 다른 실시예에서, 캐리어 물질이 유체 투과성 물딩된 디스크 프레임(21)들 사이에 배치되거나 채워지는, 상업적으로 이용 가능한 세포 캐리어(20), 예를 들어, FibraCel 디스크 및 BioNOC-II 캐리어가 사용될 수 있다. 다양한 크기와 형상의 상용 세포 캐리어를 충전한 후 디스크 프레임은 중심 샤프트와 주변 샤프트에 고정될 수 있다.
- [0063] 도 11은, 바람직하게는 폴리스티렌 또는 폴리프로필렌 지지체를 갖는 폴리에스테르 섬유인 플라스틱 물질의 다공성 및 섬유질 부직포 물질로 구성된 디스크(11), 대안적으로 매크로 또는 마이크로 캐리어로 코팅될 수 있는 디스크를 위한 기하학적 구조의 다른 실시예를 도시한다. 이 경우, 임의의 세포 개방(open-to-cell) 플라스틱 매트릭스를 사용할 수 있다. 플라스틱 매트릭스를 형성하는데 주의할 점은 이것이 세포 간극을 통한 액체 영양 매체의 흐름을 허용할 뿐만 아니라 세포의 자유로운 통과를 허용할 수 있을 만큼 충분히 다공성이라는 것이다. 그렇지 않으면 균질한 세포 퍼짐 및 세포의 후속 성장 또는 세포 수확에 어려움이 발생할 수 있다. 디스크(11)는 임의의 적절한 기공 크기 및 기하학적 구조를 가질 수 있으며, 또한 중합체 코팅 또는 마이크로 비드와 같은 다양한 구조체를 표면에 포함시킴으로써 변형된다. 대안적으로 또는 추가적으로, 디스크의 표면의 일부 또는 전부는 화학적으로 또는 생물학적으로 변형되거나 처리되어 전체 공정 효과를 향상시킨다. 디스크 물질의 기공 크기는 공정 요구에 따라 변할 수 있다. 그러나 천공이 제공될 수 있다. 대안적인 실시예에서, 디스크 상에 생성된 구멍(hole) 또는 개폐처(aperture)가 지지 매트릭스 내 혼합 상태를 향상시킨다. 이러한 구멍의 패턴, 형상, 크기 및 직경은 밀접하게 적층된 디스크들 사이에 정제된 불균질 영역이 발생하는 것을 방지하는 흐름 패턴을 만들어서 난류의 규모를 증가시킨다.
- [0064] 또한, 본 발명에 따른 상기 배양 용기(1)는 바람직하게는 세포, 배양 매체 및 다른 공급물을 제공하는 것을 포함하는 생물학적 물질을 유입하기 위한 하나 이상의 도관, 및 폐 대사 물질 및 소비된 매체를 제거하기 위한 적어도 하나의 도관을 포함한다.
- [0065] 이제 도 9에 따르면, 추가적으로 상기 배양 용기(1)는 참조 부호(14)로 도시된 바와 같이 매체 첨가 및 배출 도관, 염기 첨가 도관, 샘플링 라인, 접종원(inoculum)/시드(seed) 첨가 라인, 및 영양 공급 매체 첨가 및 공기 통기 라인을 수용하도록 구성된다. 도관은 도 9에서 배양 용기(1)의 벽의 특정 위치에 배치된 것으로 도시되어 있지만, 이 도관은 배양 시스템이 균질한 영양 및 가스 분포를 받아서 지지 매트릭스(2)의 표면 상에 성장하는 유기체의 성장을 향상시킬 수 있는 용기 상의 임의의 원하는 위치에 배치되어 유체를 배양 용기 내로 유입 및 유출시킬 수 있다. 상기 도관은 바람직하게는 배양 용기(1)의 구성에 사용되는 물질로부터 적합한 물질로 제조된다.
- [0066] 배양 용기(1)는 성분들을 혼합하는 동안 일부 혼합되는 다양한 성분(위협, 위험 및/또는 감염 성분일 수 있음)과 인간이 접촉하는 양을 줄이기 위해 성분을 충전, 스파이크, 폭기, 첨가 및/또는 배수하기 위한 하나 이상의 포트를 더 포함한다. 적합한 포트는 압축, 금 표준(standard in-gold) 또는 위생형 피팅(fitting)과 같은 이 기술 분야에 알려진 임의의 위생형 누설 방지 피팅을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 적합한 조인트는 파이프, 튜브, 호스, 중공 조인트 조립체 등을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 추가적으로, 용기는 바람직하게 공정 공급물(예를 들어, pH 완충액, 글루코스 등)을 유입하기 위한 하나 이상의 유입 포트를 구비할 수 있다.
- [0067] 본 발명에 따른 생물 반응기 시스템은 배양 용기(1) 내의 온도, 용존 산소, pH, 용존 이산화탄소, 대사 물질 등을 측정하기 위해 하나 이상의 센싱 요소, 바람직하게는 미리 삽입되고 미리 교정된 센서를 적절히 구비한다. 이러한 센서는 기존의 전기 화학 센서 및/또는 일회용 및 미리 교정된 광 센서이다. 배양 용기(1)는 pH 및/또는 용존 산소 등을 측정하기 위한 센서를 위한 하나 이상의 탐침 개구(probe opening)(15)(도 9, 도 10a, 도 10b 참조)를 포함한다. 바람직한 실시예에서, 배양 용기의 간극 내로 연장되는 하나 이상의 용존 산소 탐침 및 pH 탐침이 사용된다. 또한 배양 용기를 채우고 수확할 때 배양 용기 내에 초기에 존재하는 공기가 빠져 나갈 수 있도록 통기 필터가 있는 하나 이상의 통기 포트가 제공된다.
- [0068] 또한, 생물 반응기 내에 실질적으로 고정된 액체 체적을 유지하기 위해, 배양 시스템은 정확한 물질 균형 유지 및/또는 오버플로우 출구를 위한 적재 셀(load cell)을 더 포함할 수 있고, 이 출구는 원하는 액체 레벨을 유지하기 위하여 용기 내용물의 일부를 인출할 수 있도록 용기로부터 바깥쪽으로 연장된 파이프의 형태일 수 있다. 정상 상태(steady state)의 환경을 위해 영양 매체 또는 유체의 일정한 체적을 유지하고 생물 반응기 시스템의 관류 공정을 가능하게 하는 것이 필수적이다.
- [0069] 본 발명에 따른 시스템의 효율을 최대화하기 위해, 공정 온도를 엄격하게 제어하는 것이 바람직하다. 이것은 다수의 방법으로 수행할 수 있고, 이들 중 하나는 하나 이상의 가열 담요(heating blanket)를 사용하는 것을 수반한다. 대안적으로, 워터 자켓 시스템은 배양 용기 벽의 일부로서 제공될 수 있다. 이에 따라 용기 벽은 용기의

길이를 둘러싸는 워터 재킷, 및 이 워터 재킷을 통한 온도 조절용 유체 흐름을 위한 입구 및 출구 도관을 포함한다. 대안적으로, 배양 시스템의 원하는 온도를 유지하기 위해, 용기는 인큐베이터 룸 내와 같이 온도 제어 영역 내에 유지/배치될 수 있다.

[0070] 도 3, 도 6 및 도 13을 참조하면, 중심 샤프트(9) 둘레에 주변 샤프트(10)를 배열하는 것은 중심 샤프트(9)의 디스크(11)들 사이에 생성된 공간을 주변 샤프트(10)의 디스크(11)들이 회전하면서 침투하도록 이루어진다. 도 13에 설명된 바와 같이, 6개의 주변 샤프트(10)가 하나의 기하학적 평면에서 한 번에 중심 샤프트(9)를 둘러싸는 경우, 3개의 교대하는 주변 샤프트에 적재된 디스크들이 중심 샤프트의 2개의 연속하는 디스크들 사이에 생성된 중간 공간을 침투한다. 중심 샤프트(9)의 연속적인 디스크(11)들 사이의 부근 또는 공간(중간 공간)으로부터 주변 디스크(11)들이 중간 공간에서 회전하는 것은 충분한 혼합을 보장하고 디스크들이 샤프트들 상에 서로 밀접하게 떨어져 장착될 때 생성될 수 있는 정체 흐름 영역이 발생하는 것을 회피하는 생물학적 물질 또는 유체의 유체 경로를 생성한다. 중심 샤프트(9) 및 주변 샤프트(10)로부터 디스크(11)들이 회전하는 것에 의해 생성된 유체 흐름 패턴은, 모든 종래 기술에 개시된 시스템이 매트릭스 베드 내에 불균질 상태 문제를 나타내고 영양 분포 및 물질 전달에 비효율적인 혼합이 얻어지는 것으로 관찰되었기 때문에 다른 종래의 세포 배양 시스템보다 본 발명에 따른 생물 반응기 시스템을 보다 효율적이게 하고 높은 세포 밀도를 지원할 수 있게 한다.

[0071] 도 3 및 도 4에 도시된 바와 같이, 본 발명에서, 중심 샤프트(9)의 회전과 주변 샤프트(10)의 회전을 연결시키기 위해, 바람직하게는 타이밍 벨트와 풀리 시스템 또는 기어 구동 시스템(도 4c에 도시)과 같은 샤프트 구동 기구(16)가 사용된다. 바람직한 실시예에서, 타이밍 벨트와 풀리 시스템은 사용되고 여기서 구동 풀리는 중심 샤프트에 고정 위치되고 피구동 풀리는 주변 샤프트에 고정된다. 마찰 시스템, 스퍼 시스템, 체인 및 스프로킷 시스템과 같은 다른 구동 기구를 사용하여 중심 샤프트(9)와 함께 주변 샤프트(10)를 구동할 수 있다. 본 명세서에서 사용된 샤프트 구동 시스템에서, 중심 샤프트에 대한 주변 샤프트의 회전 속도는 풀리 또는 기어 플레이트의 직경을 변화시킴으로써 변경될 수 있다.

[0072] 본 발명의 다른 실시예에서, 복수의 샤프트 장착 프레임(7)은 주변 샤프트를 프레임워크의 고정된 위치에 고정 유지하기 위해 사용된다. 샤프트 구동 기구(16)는 복수의 샤프트 장착 프레임(7) 사이에 설치된다. 또한, 다른 지지 프레임워크(6)는 이전에 설치된 지지 프레임워크(6)에 대해 용기의 반대쪽 원위 단부에서 용기 벽에 고정 장착된다.

[0073] 중심 샤프트(9)로부터 주변 샤프트(10)까지의 거리, 디스크의 직경 및 두께, 디플렉터 베인의 근-중심 직경 등을 위한 배열, 규모 및 기하학적 파라미터는 공정 규모 및 조건에 의해 결정된다. 설명된 바와 같이, 하나 이상의 주변 샤프트는 또한 상이한 기하학적 배열로 장착될 수 있고 디스크의 예지는 도 8에 도시된 바와 같이 다른 샤프트에 장착된 디스크들의 중간 영역으로 연장되는 것이 명백하다. 그러나 다른 실시예에서 베플링 수단을 회전시키는 것에 의해 둘러싸이는 지지 매트릭스(2) 내에 하나의 샤프트가 배열될 수 있다.

[0074] 도 6, 도 7, 도 11 및 도 13에 도시된 바와 같이, 반경방향 디플렉터 베인(12)에 의해 안쪽을 향하는 유체 흐름은 샤프트들에 장착된 디스크(11)들에 충돌할 것이다. 도 3에 도시된 바와 같이 지지 매트릭스에 장착된 다수의 샤프트의 경우에, 주변 샤프트(10)들에 장착된 디스크(11)들은 회전식 디플렉터 베인(12)에 의해 생성된 내부 유체 흐름과 먼저 충돌한다. 따라서, 주변 샤프트(10)들의 뒤섞인 디스크(11)들이 중심 샤프트 디스크(11)들의 중간 공간으로부터 회전할 때, 중심 샤프트(9) 상의 디스크(11)들은 영양이 풍부한 보충되어 신선한 유체 흐름을 받는다.

[0075] 도 7에 도시된 바와 같이, 디플렉터 베인(12)의 크기 및 형상은 원하는 응용에 따라 상이한 흐름 패턴을 생성하도록 맞춰질 수 있다는 것이 주목된다. 디플렉터 베인은, 안쪽 방향으로 최대 접선 방향 유체 흐름을 위해 도 7a에 도시된 바와 같이 실질적으로 편평하거나 또는 안쪽 흐름의 추가적인 정도 및 세기를 제공하기 위해 도 7b에 도시된 바와 같이 만곡되거나 및/또는 각져 있을 수 있다. 베플 장착 플레이트(8)가 회전할 때, 디플렉터 베인(12)이 회전하는 것에 의해 생성된 유체의 항력(drag)은 지지 매트릭스 내에 균일한 상태를 생성하는 데 필요한 유체의 필요한 내향 흐름을 생성한다. 유체의 이러한 내향 운동은 디플렉터 베인(12)이 특정 정도로 비틀어지고 베플 장착 링(8)이 임펠러 베인을 포함하도록 구성될 때 현저히 낮은 혼합 시간을 신속하게 달성한다. 도 14c에서 설명된 바와 같이, 수직으로 배향된 용기에서 디플렉터 베인(12)은 반경방향으로 배치된 임펠러 베인(22)을 갖는 베플 장착 링(8)에 장착되어, 상기 용기의 축방향을 향한 상향 흐름을 생성하여, 이에 의해 반경방향으로 배치된 임펠러 베인(22)은 생물학적 물질, 생물학적 세포, 파편 및 다른 부유 입자들이 중력으로 인해 용기의 하부에 침강되는 것을 방지한다. 디플렉터 베인(12)과 함께 임펠러 베인(22)이 회전하면 수직으로 배향된 배양 용기 내에서 혼합 상태를 현저히 향상시킬 수 있다. 도 14는 베플링 수단에 디플렉터 베인(12)이 직선

으로 배열된 것(도 14b에 도시됨), 디플렉터 베인(12)이 비틀어져 배열된 것(도 14b에 도시됨), 및 배플 장착 플레이트(8)에 장착된 임펠러 베인(22)과 함께 배플 수단이 비틀어져 배열된 것(도 14c에 도시됨)을 도시한다. 이러한 배열은 지지 매트릭스의 모든 위치가 영양 분포 면에서 실질적으로 동등한 것을 보장하여, 이에 의해 영양이 풍부한 유체가 디스크의 중간 공간 주변을 통해 흐르고 또한 지지 매트릭스 내에서 공기 또는 가스가 충분히 교환되는 것을 보장한다.

[0076] 용기(1)의 하나의 단부로부터 다른 단부로 흐르는 유체의 흐름으로부터 배플링 수단을 회전시키는 에너지가 얻어지고 배플 수단이 회전하는 것에 의해 외부 회전 수단 없이 중심 샤프트와 주변 샤프트가 회전할 수 있도록 중심 샤프트(9)에 고정 적재되는 배플링 수단에 나선형 형상의 디플렉터 베인(12)을 제공하는 것은 본 발명의 범위 내에 있다. 그리하여, 임의의 회전 수단을 사용하지 않고도, 본 발명에 따른 생물 반응기 시스템이 동작된다.

[0077] 바람직한 실시예에서, 디스크(11)들 및 회전식 디플렉터 베인(12)들이 회전하는 것은 운동 에너지원으로부터 운동 에너지를 수신하도록 기계적으로 결합된다. 이에 의해, 디스크(11)들과 디플렉터 베인(12)들이 회전하는 것이 동시에 제어된다. 내부 자석(도시되지 않음)들이 중심 샤프트 상에 고정 장착된 자성 아암에 장착될 때, 외부 자석은 기계적 수단, 즉 모터 벨트에 의해 구동된다. 외부 자석 드라이브의 동작은 내부 자석을 움직이게 함으로써 샤프트, 디스크(11) 및 디플렉터 베인(12)을 제어된 속도로 동시에 회전하게 한다. 본 명세서에서 설명된 회전 수단은 또한 디스크 및 디플렉터 베인의 회전 속도를 모니터링하기 위한 기구를 더 포함할 수 있다.

[0078] 또 다른 바람직한 실시예에서, 별도의 자성 회전 수단이 디스크(11) 및 디플렉터 베인(12)에 사용된다. 디스크를 회전시키기 위한 자성 회전 수단은 중심 샤프트에 고정 장착되고 디플렉터 베인을 회전시키기 위한 수단은 배플 장착 플레이트에 장착된다. 디스크 회전 및 편향기 회전을 위해 별도의 회전 수단이 사용되는 경우, 디스크 및 디플렉터 베인의 회전 속도는 독립적으로 제어되고 측정될 수 있다.

[0079] 도 1 및 도 2에 도시된 본 발명의 바람직한 실시예에서, 디스크들은 균일하게 이격되어 있기 때문에, 지지 매트릭스의 일부를 포함하는 디스크들이 매체로 완전히 채워질 때, 각 플레이트에 걸쳐 액체 배양 매체가 흐르는 것이 저장조 전체에 걸쳐 실질적으로 균일하게 된다. 저장조를 통한 흐름이 균일한 것은 정역학적 원리(hydrostatic principle)에 의해 쉽게 입증될 수 있으며, 모든 플레이트에 걸쳐 흐름이 균일한 것은 염료 분산 실험에 의해 경험적으로 입증될 수 있다.

[0080] 조직 공학 응용 분야에 사용되는 경우 디스크를 구성하는 적합한 물질은 또한 천연 식물성 스폰지 또는 동물성 스폰지를 포함할 수 있지만 이들로 제한되지는 않는다. 상기 기준을 충족시키는 폴리우레탄 또는 다른 합성 물질로 제조된 합성 스폰지가 이용될 수 있다. 마이크로미터 또는 나노미터 규모의 평균 섬유 직경을 갖는 그러한 섬유 직물은 조직 공학 응용 분야에 사용하기 위한 복잡한 3차원 비계를 제조하는데 사용되어 왔다. 이러한 2D 및/또는 3D 비계는 지지 매트릭스를 구성하는데 사용될 수 있다.

[0081] 동작 동안, 영양 매체는 매체 첨가 도관을 통해 용기에 채워진다. 영양 매체를 적절하게 조절한 후에, 생물학적 물질을 용기(1) 내에 첨가한다. 그런 후, 자성 회전 수단(13)을 통해 운동 에너지를 제공함으로써 상기 중심 샤프트(9) 및 주변 샤프트(10) 및 디플렉터 베인(12)이 특정 회전 속도로 회전한다. 공정 관련된 생리적 파라미터는 센서 요소 및 펌핑 수단이 있는 첨가 도관을 사용하여 제어된다. 여기서, 중심 샤프트(10)와 주변 샤프트(11) 및 디플렉터 베인(12)은 별개의 회전 수단을 사용하여 서로 다른 속도로 회전할 수 있다는 것이 주목된다. 중심 샤프트(9)의 연속적인 디스크(11)들 사이의 중간 공간(11a)으로부터 주변 디스크(11)들이 중간 공간에서 회전하는 것은 디스크들이 샤프트 상에 서로 밀접하게 떨어져 장착될 때 생성될 수 있는 정체된 유체 영역이 발생하는 것을 회피하고 충분한 혼합을 보장하는 생물학적 물질 또는 유체의 유체 흐름 패턴을 생성한다. 중심 샤프트(9) 및 주변 샤프트(10)들로부터 디스크(11)들이 회전하는 것에 의해 생성된 유체 흐름 패턴은, 모든 선행 기술에 개시된 시스템이 매트릭스 베드 내에 불균질 상태 문제를 나타내고 영양 분포 및 물질 전달을 위한 비효율적인 혼합이 얻어지는 것으로 관찰되었기 때문에 다른 종래의 세포 배양 시스템보다 본 발명에 따른 생물 반응기 시스템을 보다 효율적이게 하고 높은 세포 밀도를 지원할 수 있게 한다. 상기 디스크들이 회전하는 배열의 상기 패턴은 각 디스크 사이의 중간 공간(공간)(11a)에 불균일하고 정체된 유체 영역이 존재하지 않는 것을 보장한다. 또한, 이러한 디스크들이 회전하는 배열은 높은 효율로 혼합시키는 것에 기여할 뿐만 아니라, 또 다른 중요한 장점으로, 비우거나, 따라내거나(decant) 또는 수확할 때 용기 내용물이 배출되는 것을 용이하게 한다. 일반적으로 매체는 모세관 작용에 의해 플레이트들 사이에 유지되는 경향이 있지만, 플레이트들이 뒤섞여 회전할 때 배수 효율이 향상된다는 것이 밝혀졌다. 관류 처리를 위해 일정한 유체 체적을 유지하고 공정의 정상 상태 평형을 달성하기 위해 계산된 양의 유체 체적이 연속적으로 배수되고 영양이 풍부한 신선한 매체 또는 유

체가 용기에 첨가된다. 일단 원하는 양의 생성물이 생성되면, 용기 내용물을 따라내거나 수확하여 추후 처리를 위해 저장된다.

- [0082] 배양 용기 벽을 통해 지지 매트릭스 내로 삽입된 진동 공구 또는 초음파 분해(sonication) 탐침을 이용하여 지지 매트릭스의 표면에 진동 운동을 효과적으로 가함으로써 디스크의 표면에 부착된 생물학적 세포 또는 지지 매트릭스 디스크의 표면에 코팅된 활성 성분 또는 입자를 분리시키는 것은 본 발명의 범위 내에 있다.
- [0083] 따라서, 본 발명에 따른 용기 내용물을 효율적으로 혼합하면 균일한 시스템이 용기 내에서 달성되고 유지되는 것을 보장할 수 있다. 이러한 효율적인 혼합은 용기 내용물에 첨가된 성분이 신속하고 완전히 분배되게 하여, 성장 매체의 조성 및 다른 조건의 측정이 연속적이고 신뢰성 있게 쉽게 수행될 수 있게 한 결과 전체 계측에 걸쳐 공정 제어를 정확히 수행할 수 있는 것을 보장한다. 용기 내의 혼합 속도 및 혼합 정도는 디스크 스택이 회전하는 속도와 보조 펌핑 수단의 제어를 조합하는 것에 의존한다. 혼합되는 것은 또한 배플링 수단의 회전 속도의 증가 및 만곡된 베인의 각도를 조정하는 것에 의해 더욱 개선될 수 있다. 디스크 스택의 회전 속도 및 용기 내용물의 보조 펌핑 정도의 영향 및 상호 관계는, 배양 용기에 소정의 염료를 주입하고, 디스크 스택을 회전시키고, 보조 펌핑을 수행하고, 용기 내용물에 걸쳐 염료가 95% 분산되는 데 걸리는 시간을 결정하는 것에 의해 입증될 수 있다. 디스크, 배플 베인 및 주변 샤프트의 최적 패턴링(예를 들어, 크기, 형상 및 주파수)은 반응기 크기(규모), 속도, 점도 및 세포 플랫폼의 특성 및 관련 최적화된 성장 매체의 함수가 된다. 최적의 혼합 상태를 제공하는 특정 패턴은 유한 요소 분석 연구([www.fluent.com](http://www.fluent.com))를 통해 또는 경험적 실험을 통해 결정될 수 있다. 이 연구는 일반적으로 시간이나 교반 사이클의 수의 함수로서 혼합을 연구하는 것을 포함한다.
- [0084] 또한, 각각의 디스크(11)가 가능한 최대 성장 표면을 제공할 수 있게 하기 위해, 각 플레이트 사이의 공간 및 배양 용기의 내부 벽과 주변 샤프트(10)에 적재된 디스크(11)의 외부 주변 사이의 공간은 최적화될 수 있고, 이것은 공정 조건 및 규모에 의해 결정된다.
- [0085] 처리 유체 또는 영양 매체를 유지하기 위한 하나 이상의 저장조는 바람직하게는 배양 용기의 입구 전에 재순환 루프 시스템에 연결된다.
- [0086] 또한, 바람직한 실시예에서, 본 발명은 또한 베인 펌프, 다이어프램 펌프 또는 연동 펌프, 또는 흐름을 생성하는 임의의 다른 수단과 같은 펌핑 커넥터 몸체를 통해 매체를 재순환시키는 수단을 이용한다. 생물 반응기 시스템에 신선한 영양을 관류시키기 위해 부분 재순환 구성 요소를 갖는 재순환 시스템을 제공하는 것은 본 발명의 범위 내에 있다.
- [0087] 본 발명에 따른 생물 반응기의 또 다른 주요 특징은 하나의 생물 반응기 장치의 출력을 후속하는 더 큰 생물 반응기 장치의 입력에 연결하는, 시퀀스로 링크하는 능력이다. 생물 반응기의 크기를 이렇게 순차적으로 정렬하면 생산 스테이지를 위해서뿐만 아니라 전체 시드 트레인(seed train)을 위해 일회용 생물 반응기를 사용할 수 있다.
- [0088] 소형 유닛으로부터 대형 유닛으로 확장하는 경우, 본 발명의 디바이스는 가스 교환 모듈 또는 배양 용기 벽에 더 많은 가스 교환 멤브레인 또는 튜닝을 단순히 증가시키거나 통합함으로써 가스 교환 확산 속도가 유지되도록 직접 또는 선형적으로 확장 가능하다. 확장하는 것은, 지지 매트릭스의 두께 및 높이, 및 배양 챔버의 대응하는 크기를 유지하고, 지지 매트릭스를 사용 가능한 생산 크기로 확대시킴으로써 달성된다. 배양 용기에 대한 지지 매트릭스의 중형비(용기의 높이 대 직경) 및 크기는 최적화될 수 있으며, 이것은 공정에 의존한다. 선형 확장성은 제조 개발 시간을 줄여서 개발 비용을 상당히 줄이고 시장 진입 시간을 크게 단축시킨다.
- [0089] 본 발명의 실시예의 특징 또는 동작은 동작을 수행하기 위한 배선된 로직을 포함하는 특정 하드웨어 구성 요소에 의해 수행되거나 또는 프로그래밍된 데이터 처리 구성 요소와 특정 하드웨어 구성 요소의 임의의 조합에 의해 수행된다. 본 발명의 실시예는 소프트웨어, 데이터 처리 하드웨어, 데이터 처리 시스템으로 구현되는 방법, 및 본 명세서에 설명된 바와 같은 다양한 처리 동작으로 구현되거나 이들을 포함할 수 있다.
- [0090] 이제, 도 15a, 도 15b 및 도 15c는 본 발명에 따른 생물 반응기 시스템의 다른 실시예를 도시한다. 이 실시예에서, 도 15a에 상세히 도시된 바와 같이, 용기(1) 및 지지 매트릭스(2)는 수직 구성으로 배향된다. 생물 반응기 시스템의 모든 구성 요소 및 그 기능 및 전체 동작은 도 1 내지 도 14를 참조하여 기술한 실시예에서 설명된 것과 동일한 방식으로 수행될 수 있다는 것이 주목된다. 상기 실시예에서, 용기(1)는 부분적으로 영양 매체로 채워져서 샤프트의 모든 디스크(11)가 잠겨서 매체 내에서 회전된다. 상기 구성은 용기(1) 내에 오버레이 공간(23)을 한정하고, 여기서 샤프트 구동 기구(16)가 위치되고 이로부터 상기 중심 샤프트(9) 및 주변 샤프트(10)들이 매체 내로 연장된다. 여기서, 용기(1)는 공기, 산소, 이산화탄소 또는 다른 가스를 오버레이 공간(23)으로

주입하여 물질을 전달하기 위한 추가 수단을 제공하기 위한 추가적인 가스 입구 포트(14)를 구비한다. 여기서, 디스크를 회전시키기 위한 자성 회전 수단(13)은 용기의 하부에 위치되고, 배플 장착 링(8)과 함께 디플렉터 베인을 회전시키는 수단은 도 15a에 도시된 바와 같이 배양 용기의 상부에 위치된다. 매체는 용기(1)로부터 출구(1b)를 통해 배출되고 나서 가스 교환기로부터 펌핑 수단을 통해 흐름으로써 입구(1a)를 통해 용기(1)로 공급된다. 이 실시예에서, 디스크를 회전시키기 위한 하부 자성 회전 수단(13)은 또한 배양 용기(1)의 하부 표면에서 세포 및 다른 파편이 침강되는 것을 방지하기 위해 추진 프레임을 포함한다.

[0091] 도 16a, 도 16b 및 도 16c에 도시된 본 발명의 다른 실시예에서, 상기 샤프트 구동 기구(16) 및 자성 회전 수단(13)은 오버레이 공간(23) 내에 장착된다. 배플 조립 링(8)에 몰딩된 임펠러 베인에 장착된 디플렉터 베인(12)은 배양 용기의 하부에 회전 가능하게 장착되어 배양 용기의 하부 표면에 세포 및 다른 파편이 침강되는 것을 방지한다. 또한, 도 16a에 도시된 바와 같이, 상기 실시예에서, 기어 플레이트들은 중심 샤프트(9) 및 주변 샤프트(10)들을 회전시키는데 이용된다. 여기서 중심 샤프트(9)에 장착된 기어 플레이트는 중심 기어 플레이트(17)라고 지칭될 수 있고, 주변 샤프트(10)들에 장착된 기어 플레이트들은 주변 기어 플레이트(18)라고 고려될 수 있다. 중심 기어 플레이트(17)의 톱니(teeth)는 주변 기어 플레이트(19)들의 톱니들 사이의 공간에 수용되어, 중심 기어 플레이트(17)가 회전하는 것에 의해 주변 기어 플레이트(19)들이 회전하게 한다(도 4c 참조). 동작 동안, 중심 기어 플레이트는 상기 자성 회전 수단(13)에 의해 회전되어 상기 주변 기어 플레이트들 및 그리하여 그 대응하는 주변 샤프트(10)들이 회전된다. 중심 샤프트(9) 및 주변 샤프트(10)들이 회전하는 속도는 중심 기어 플레이트 및 주변 기어 플레이트들의 톱니의 직경을 변경함으로써 변할 수 있다. 전술된 실시예에서 상기 구동 샤프트 기구를 적응시키는 것은 본 발명의 범위 내에 있다. 이 실시예에서, 배플 장착 링(8)에 몰딩된 하부 임펠러 베인은 배양 용기(1)의 하부 표면에서 세포 및 다른 파편이 침강하는 것을 방지하기 위해 추진 베인 또는 프레임을 포함한다.

[0092] 전술한 실시예를 참조하여 기술된 본 발명은 특히 다양한 생물학적 세포를 효과적으로 세포 배양하기 위한 것이 주목된다. 그러나, 본 발명에 따른 생물 반응기 시스템은 또한 하기에 기술된 바와 같이 상이한 종류의 분야에서 사용될 수 있다.

[0093] 다양한 기질을 효소로 처리하기 위해 본 발명에 따른 생물 반응기 시스템을 구성하는 것은 본 발명의 범위 내에 있다. 효소는 인류 역사 전반에 걸쳐 사용되어 왔으며 오늘날 효소 적용은 생명 공학 공정의 핵심에 중요한 역할을 한다. 이러한 생명 공학 공정의 많은 수는 누설 저항, 장기간 보관 시 효소 활동의 유지, 및 불리한 환경 조건에서 동작 안정성, 기질 접근성, 빠른 촉매 작용, 및 일반적으로 높은 효소 고정 밀도 및 적절한 배향 면에서 성공적인 효소 고정을 요구한다. 상이한 고정 방법 중에서, 호스트 반투막 멤브레인 내에서의 효소 캡슐화 또는 입자, 캡슐, 섬유 등의 형태의 하이드로겔 및 다른 중합체 물질과 같은 네트워크 매트릭스에서의 포획이 특히 중요하다. 상기 언급된 효소 캡슐화 기술을 사용하여 디스크를 생성하거나 제조하면 상기 생물 반응기 시스템이 다양한 기질을 효율적으로 효소 처리할 수 있게 만들 수 있다. 지지 매트릭스 내 상태가 균질화된 것으로 인해, 기질은 효소, 촉매 단백질 또는 이들 단백질의 활성 부위가 디스크의 표면 상에 코팅, 매립 또는 캡슐화되도록 상기 디스크(11)를 구성함으로써 제품 또는 다른 중간체로 전환될 수 있다. 이러한 공정에서, 생물 반응기 시스템 및 그 구성 요소는 전술한 실시예에서 기술된 것과 동일한 방식으로 작용한다.

[0094] 다양한 화학적, 유기 또는 무기 화합물 또는 그 작용 기 또는 활성 부위가 디스크(11)의 표면 상에 코팅되거나 매립되거나 캡슐화되도록 상기 디스크(11)를 구성함으로써 다양한 화학적 또는 생화학적 전환 또는 반응을 달성하기 위해 본 발명에 따른 생물 반응기 시스템을 구성하는 것은 본 발명의 범위 내에 있다.

[0095] 또한, 유출 스트림을 처리하고 다양한 생물학적 재생 처리를 위해 본 발명에 따른 생물 반응기 시스템을 구성하기 위해, 큰 크기의 디스크가 적절한 물질로 구성되어 표면 상에 미생물이 성장하는 것을 지원하여 생물학적 접촉기를 회전시키는 것과 유사하게 용기(1)를 사용할 수 있게 한다. 지지 매트릭스(2)는 용기에 의해 실질적으로 또는 부분적으로 덮일 수 있고, 반응기는 개방된 환경 상태에서 동작될 수 있다. 전술된 바와 같이 디스크(11)들이 뒤섞인 상태로 회전되어 주변 디스크들이 회전되어 중심 샤프트에 적재된 디스크들 사이의 중간 공간 영역을 실질적으로 부분적으로 덮을 때 디스크 표면에 미생물이 과다 증식하는 일이 없어지거나 제거될 때 공정의 지속 시간 및 효율이 향상될 수 있다.

[0096] 또한, 본 발명에 따른 생물 반응기 시스템은 공정 요건에 따라 다양한 가스 혼합물을 처리하거나 또는 세정하는데 사용될 수 있는 바이오-필터 또는 화학-필터로서 이용되도록 더 구성된다. 이를 위해 디스크는 화학적, 생화학적 물질종 또는 살아 있는 유기체로 코팅되어 있으며, 용기(1)의 입구 포트로부터 흐르는 유체는 입구 가스 혼합물로부터 제거되어야 하는 산업 폐 가스 또는 다른 휘발성 물질종을 포함하는 가스 형태이다.

[0097] 본 발명은 다음의 예에서 상세하게 실험되고 예시된다. 이 예는 본 발명의 범위 내에 있는 실시예를 설명하고 입증한다. 이 예는 단지 설명을 위해 주어진 것일 뿐, 많은 변화가 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 가능하므로, 본 발명을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0098] 예 1:

[0099] 생물학적 물질을 균질하게 교반하기 위해 혼합 시간을 측정하는 실험을 세포 응집체가 도입되는 1L 배양 매체가 채워진 용기에서 수행하였다. 이때 상기 배양 용기의 높이/직경 비는 1.80이었고, 각 디스크의 직경은 바람직하게는 38mm이었고, 주변 샤프트의 근-중심 직경은 바람직하게는 50mm이고, 만곡된 베인의 근-중심 직경은 85mm이었고, 만곡된 베인의 각도는 바람직하게는 40° 이었다. 베인 및 샤프트의 디스크의 회전 속도에 따라, 용기 내 성분들이 적절히 혼합된 것을 나타내는 혼합 시간의 형태로 다음 관독 값을 취했다. 염료 탈색 기술은 가장 간단한 방법이며 이에 이 기술을 주로 혼합 시간을 측정하는데에 사용한다. 이것은 하나 이상의 pH 지시약을 사용하여 벌크 용액에 산(또는 염기)을 첨가하여 이루어진다. 탈색은 육안 관찰로 검사할 수 있다. 나안으로 육안 관찰하거나 비디오 이미지에 의해 혼합 시간을 평가하는 것은 종종 주관적이다. 혼합 시간은 분산된 상을 첨가하는 것과 마지막 컬러 트레이스가 소멸하는 것 사이의 간격 시간으로 정의된다.

| 생물 반응기의<br>체적 용량 | 배플용 만곡된<br>베인의 RPM | 디스크의<br>RPM | 매체-유입 도관으로부터<br>액체의 재순환 흐름<br><br>(L/min) | 혼합 시간<br>(초) |
|------------------|--------------------|-------------|-------------------------------------------|--------------|
| <b>1L</b>        | 10                 | 2           | 0.4                                       | 48           |
|                  | 10                 | 10          | 1                                         | 35           |
|                  | 35                 | 2           | 0.4                                       | 32           |
|                  | 35                 | 10          | 1                                         | 21           |

[0100]

[0101] 예 2:

[0102] 다른 실험에서, 상기 용기를 10L 배양 매체로 채웠다. 이때 상기 배양 용기의 높이/직경 비는 1.85이었고, 각 디스크의 직경은 바람직하게는 70mm이었고, 주변 샤프트의 근-중심 직경은 바람직하게는 96mm이었고, 만곡된 베인의 근-중심 직경은 178mm이었고, 만곡된 베인의 각도는 바람직하게는 40° 이었다. 베인 및 디스크의 회전 속도 및 매체의 재순환 흐름을 변경하고 상기 예에서 기술된 것과 동일한 방식으로 적절한 혼합을 위해 혼합 시간을 측정하는 절차를 수행하였다. 다음 결과가 얻어졌다.

| 생물 반응기의<br>체적 용량 | 배플용 만곡된<br>베인의 RPM | 디스크의<br>RPM | 매체-유입 도관으로부터<br>액체의 재순환 흐름<br><br>(L/min) | 혼합 시간<br>(초) |
|------------------|--------------------|-------------|-------------------------------------------|--------------|
| <b>10L</b>       | 10                 | 2           | 0.5                                       | 209          |
|                  | 10                 | 10          | 2                                         | 178          |
|                  | 35                 | 2           | 0.5                                       | 93           |
|                  | 35                 | 10          | 2                                         | 65           |

[0103]

[0104] 예 3:

[0105] 100L의 배양 매체로 채운 용기에서 세포 배양을 수행하고 하기 결과를 기록하였다. 이때, 상기 배양 용기의 높이/직경 비는 2.00이었고, 각 디스크의 직경은 160mm이었고, 주변 샤프트의 근-중심 직경은 바람직하게는 195mm이었고, 만곡된 베인의 근-중심 직경은 380 mm이었고, 만곡된 베인의 각도는 바람직하게는 40° 이었다.

| 생물 반응기의<br>체적 용량 | 배플용 만곡된<br>배인의 RPM | 디스크의<br>RPM | 매체-유입 도관으로부터<br>액체의 재순환 흐름<br><br>(L/min) | 혼합 시간<br>(초) |
|------------------|--------------------|-------------|-------------------------------------------|--------------|
| 100L             | 10                 | 5           | 2                                         | 647          |
|                  | 10                 | 15          | 8                                         | 501          |
|                  | 35                 | 5           | 2                                         | 267          |
|                  | 35                 | 15          | 8                                         | 188          |

[0106]

[0107]

관찰:

[0108]

상기 결과로부터, 배인 및 디스크의 RPM 및 도관 내 매체의 재순환 흐름을 증가시킴으로써, 혼합 시간이 상당히 단축된다는 것이 주목되었다. 따라서, 본 장치로 최적의 회전 속도를 사용하면 연속적이고 대규모로 세포를 배양하는 절차를 크게 단순화할 수 있다. 용기의 치수, 배인의 각도 등과 같은 다른 파라미터를 변경함으로써 혼합을 개선하는 것은 본 발명의 범위 내에 있다.

[0109]

개시되고 청구된 모든 장치 및 방법은 본 명세서에 비추어 과도한 실험 없이 제조되고 실행될 수 있다. 본 발명의 시스템, 장치 및 방법이 바람직한 실시예와 관련하여 설명되었지만, 변형이 본 발명의 개념, 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서 본 명세서에서 설명된 방법, 시스템 및 장치에, 및 방법의 단계에 또는 단계들의 시퀀스에 적용될 수 있음은 이 기술 분야에 통상의 지식을 가진 자에게 명백할 것이다.

### 부호의 설명

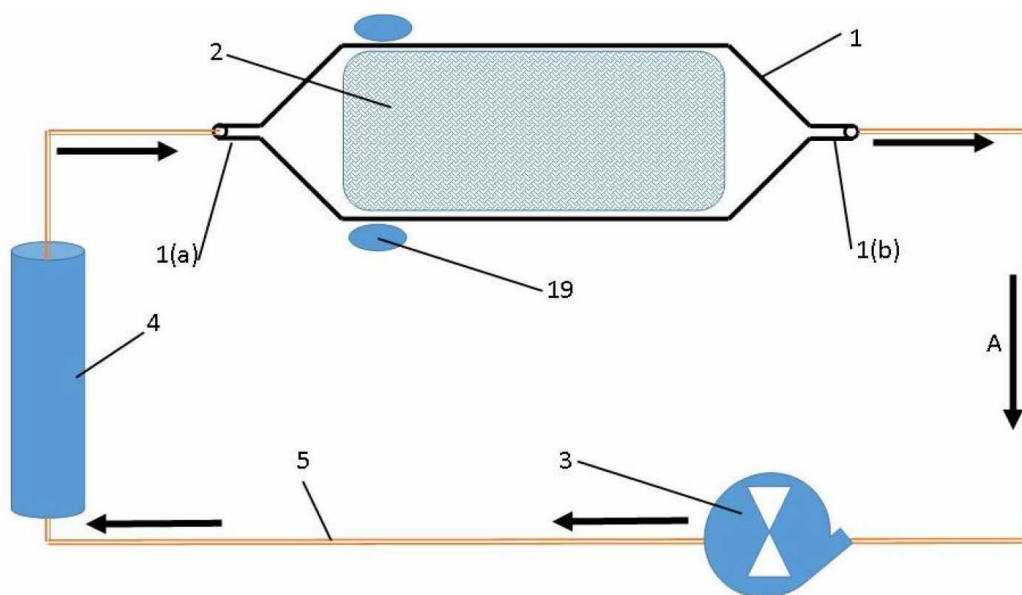
[0110]

- 1: 배양 용기
  - 1a: 입구 포트
  - 1b: 출구 포트
- 2: 지지 매트릭스
- 3: 펌핑 수단
- 4: 가스 교환 수단
- 5: 주 도관
- A: 재순환 루프
- 6: 지지 프레임워크
  - 6a, 7a: 중공 중심
  - 6b, 6d, 7b: 스포크
  - 6c: 내부 원형 플레이트
  - 6e: 배플 지지 프레임
- 7: 주변 샤프트 장착 프레임
- 8: 배플 장착 플레이트
- 9: 중심 샤프트
- 10: 주변 샤프트
- 11: 디스크

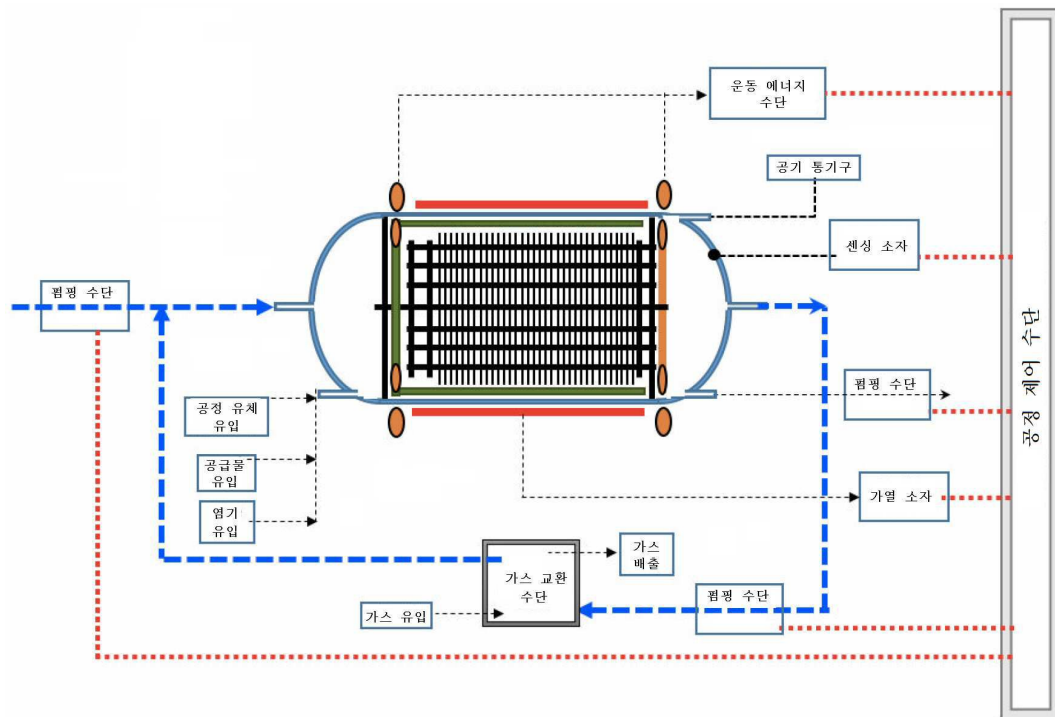
- 11a: 중간 공간
- 12: 디플렉터 베인
- 13: 자성 회전 수단
- 14: 도관
- 15: 센서
- 16: 샤프트 구동 기구
- 17: 중심 기어 플레이트
- 18: 주변 기어 플레이트
- 19: 운동 에너지 수단
- 20: 상용 세포 캐리어
- 21: 유체 투과성 몰딩된 디스크 프레임
- 22: 임펠러 베인
- 23: 오버레이 공간

## 도면

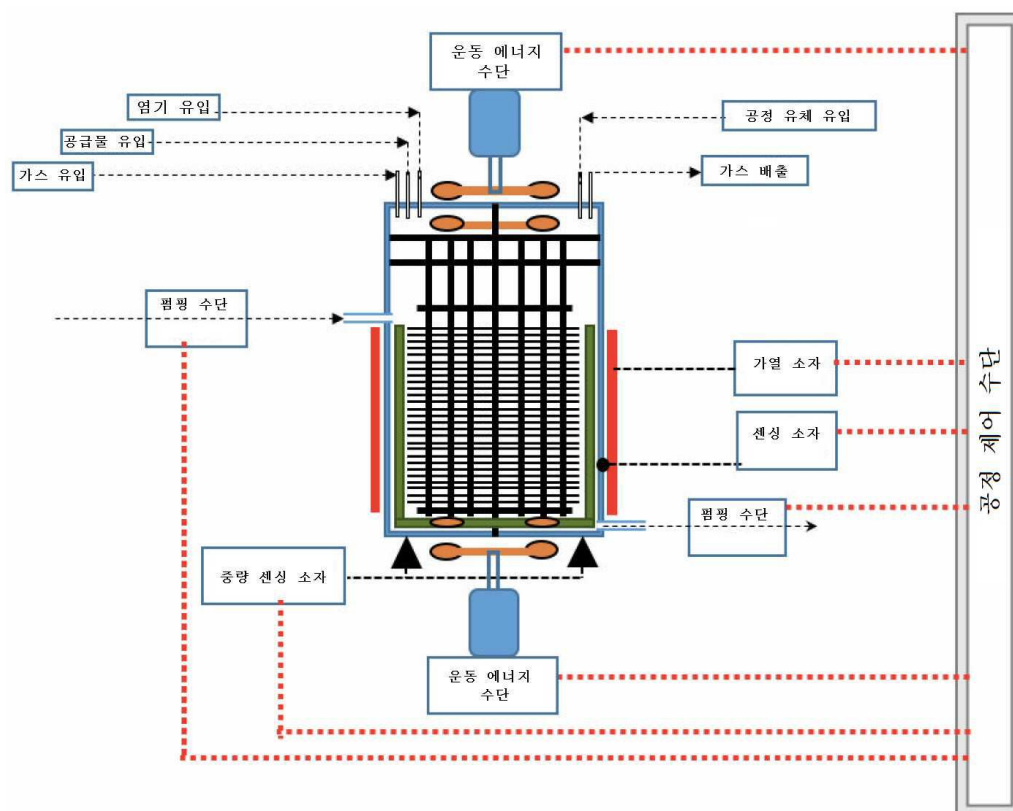
### 도면1a



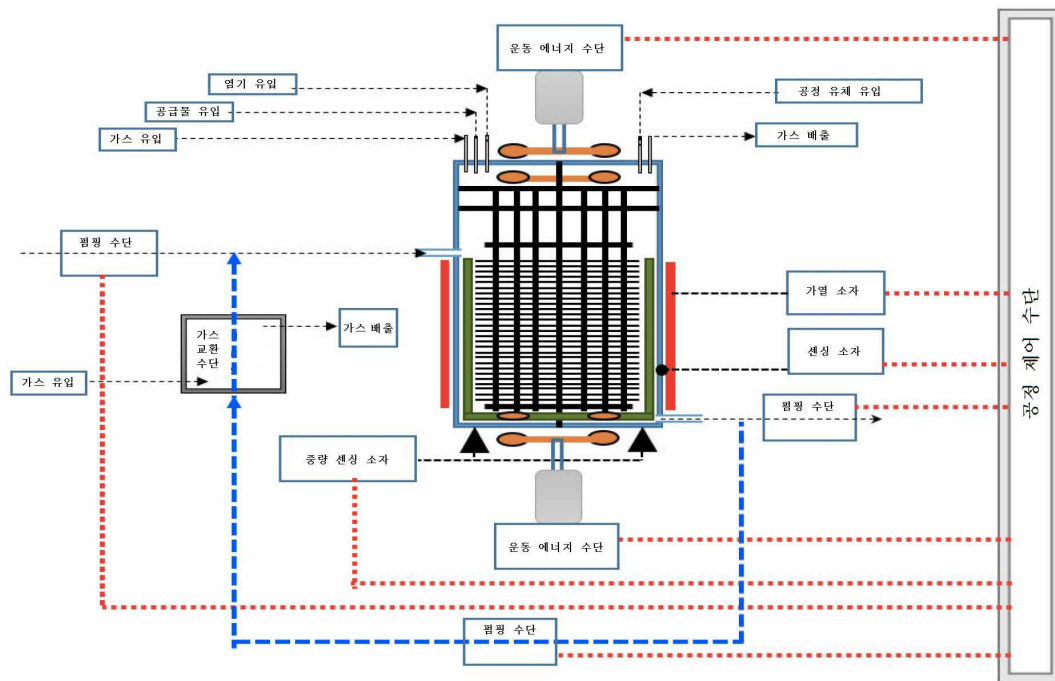
도면1b



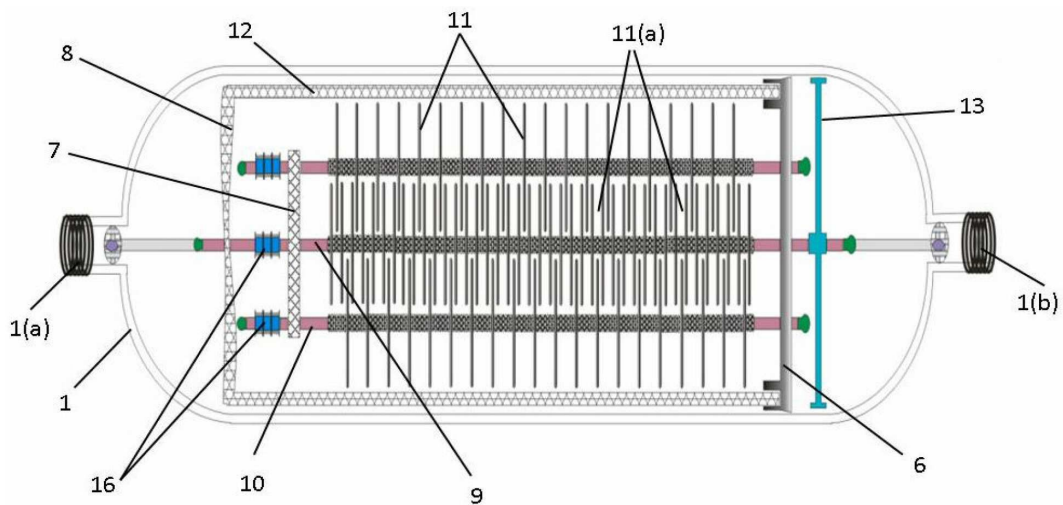
도면2a



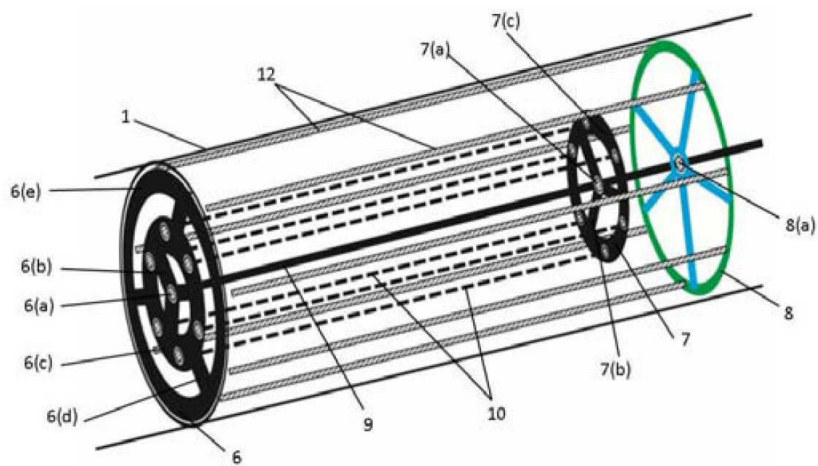
도면2b



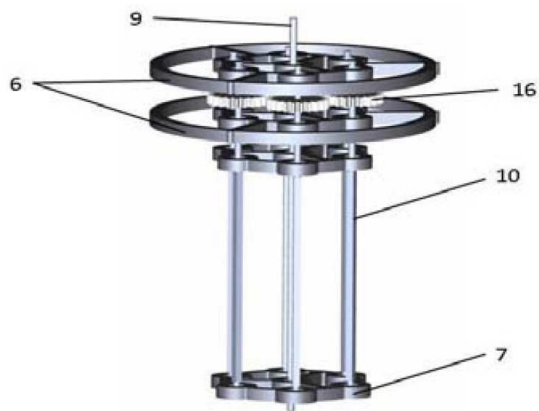
도면3



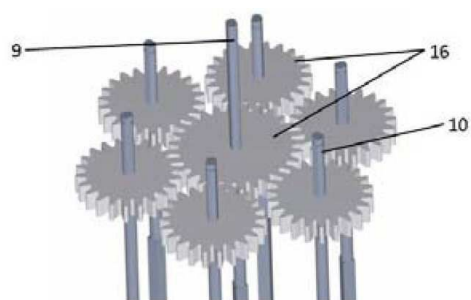
도면4a



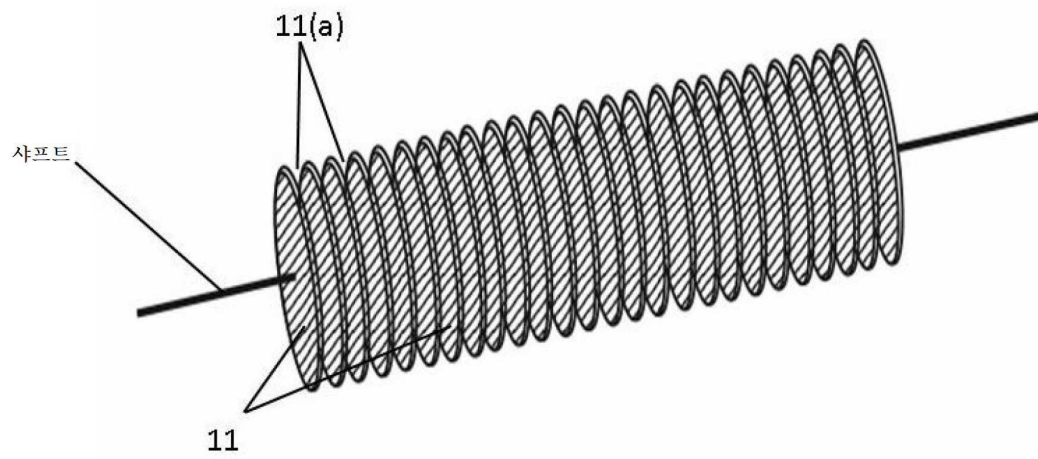
도면4b



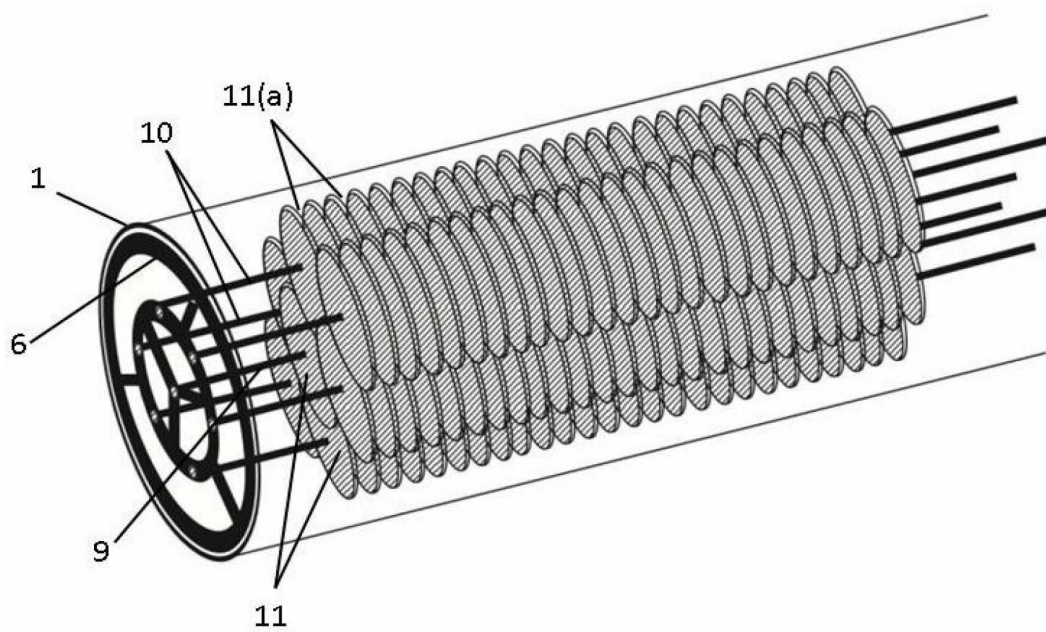
도면4c



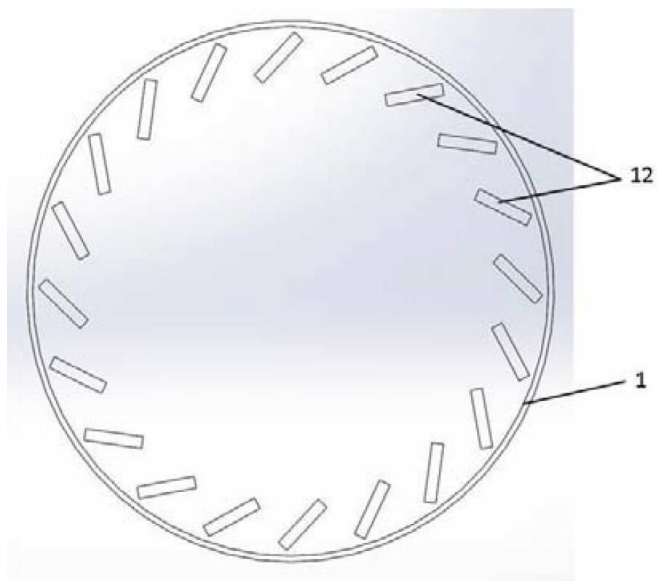
도면5



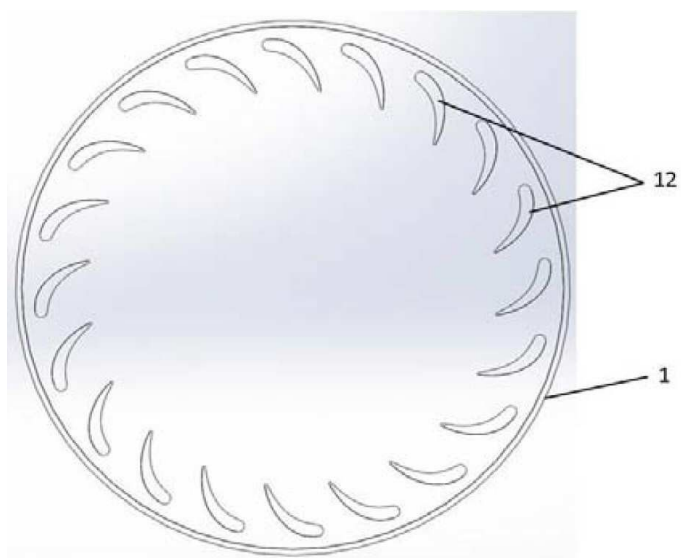
도면6



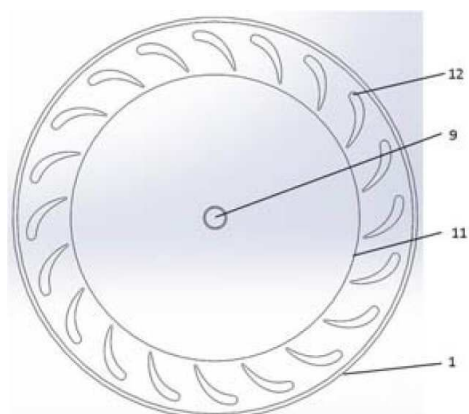
도면7a



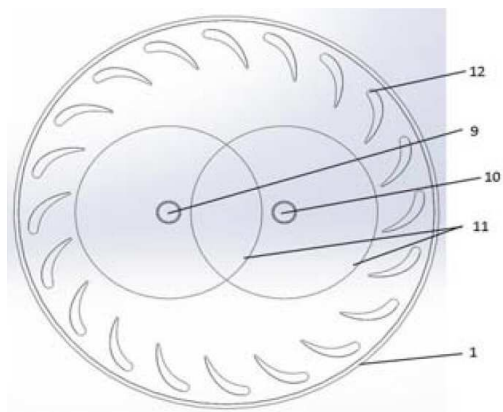
도면7b



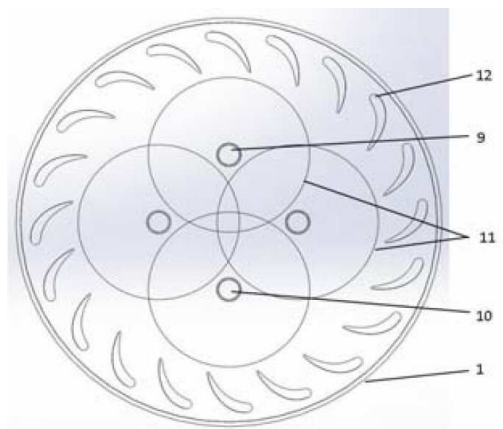
도면8a



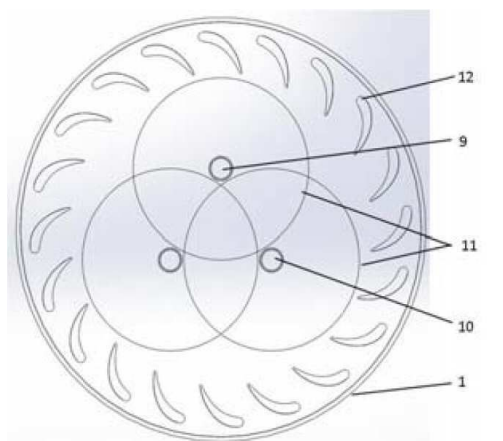
도면8b



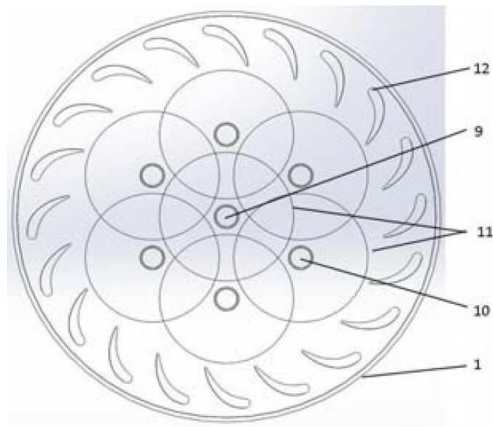
도면8c



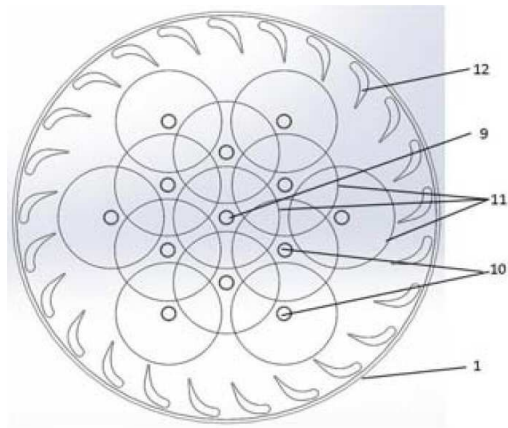
도면8d



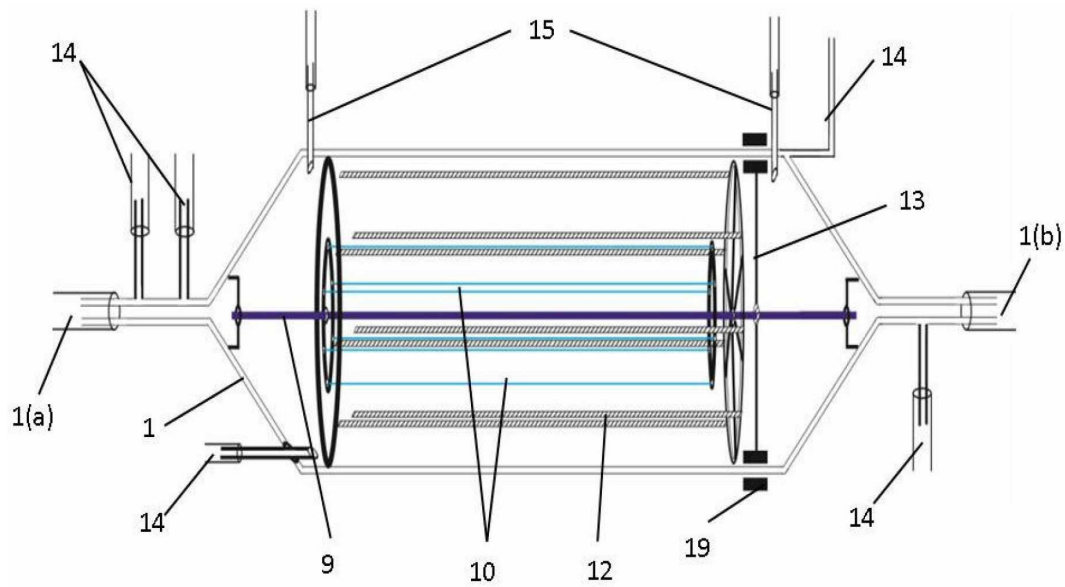
도면8e



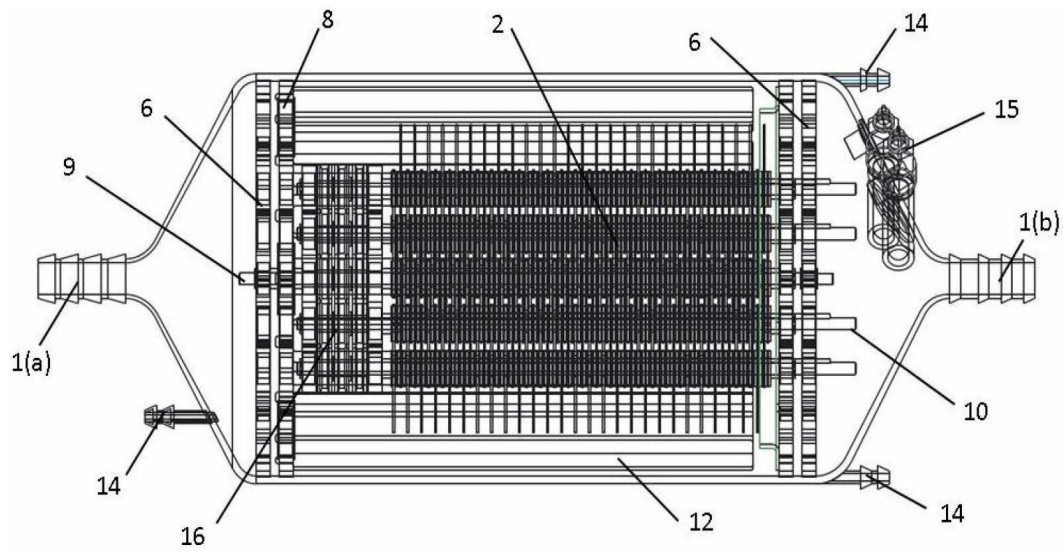
도면8f



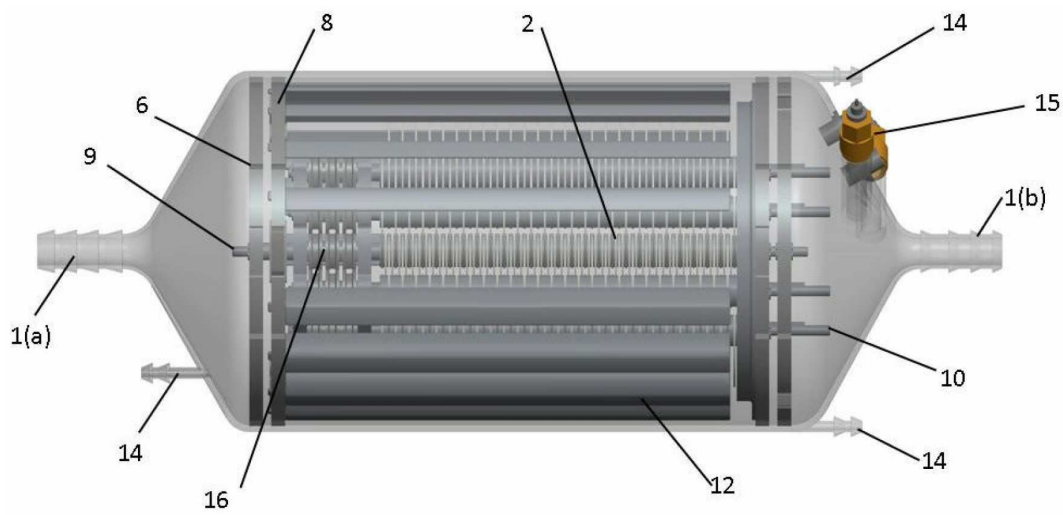
도면9



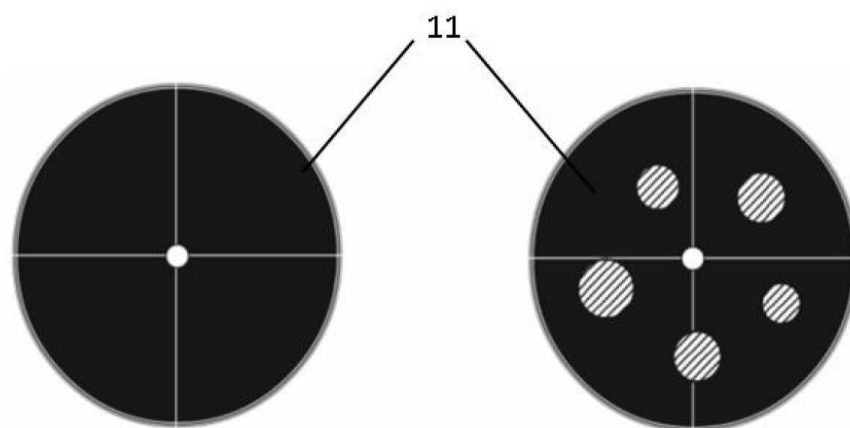
도면10a



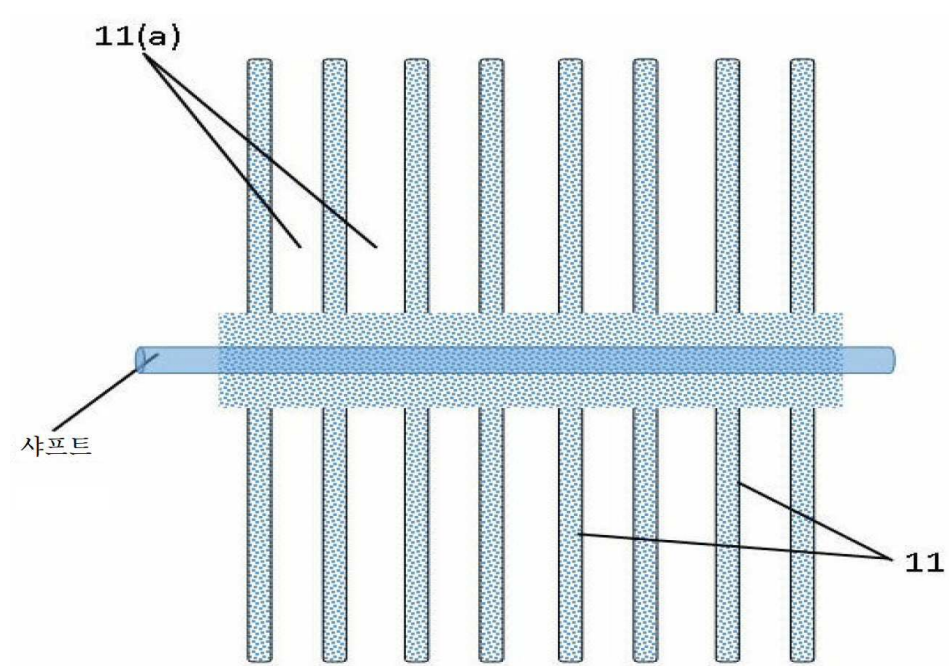
도면10b



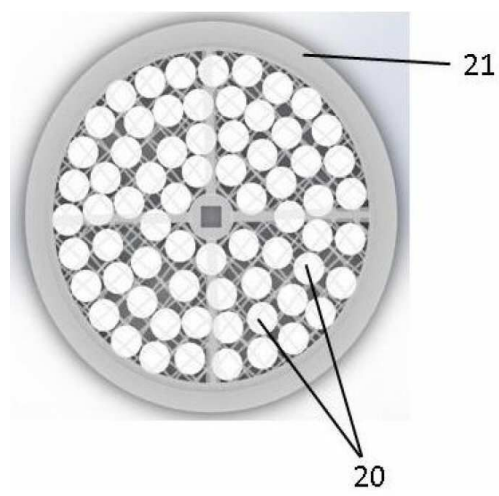
도면11a



도면11b



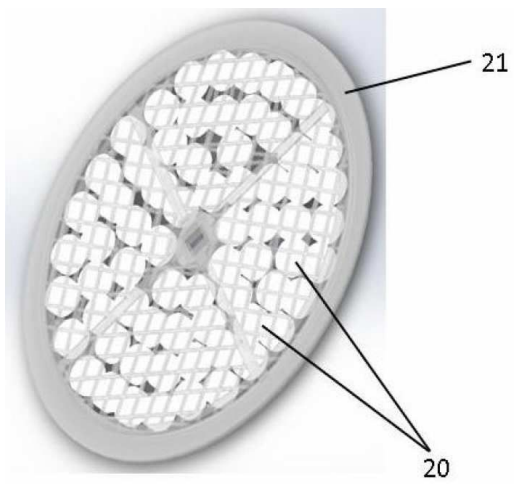
도면12a



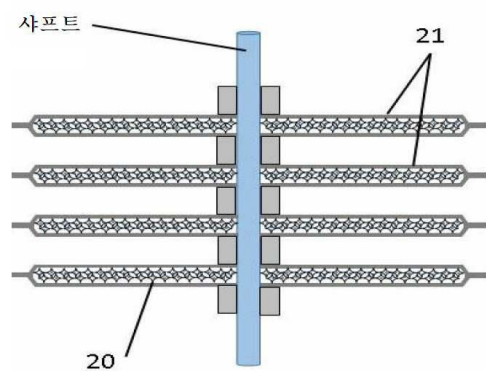
도면12b



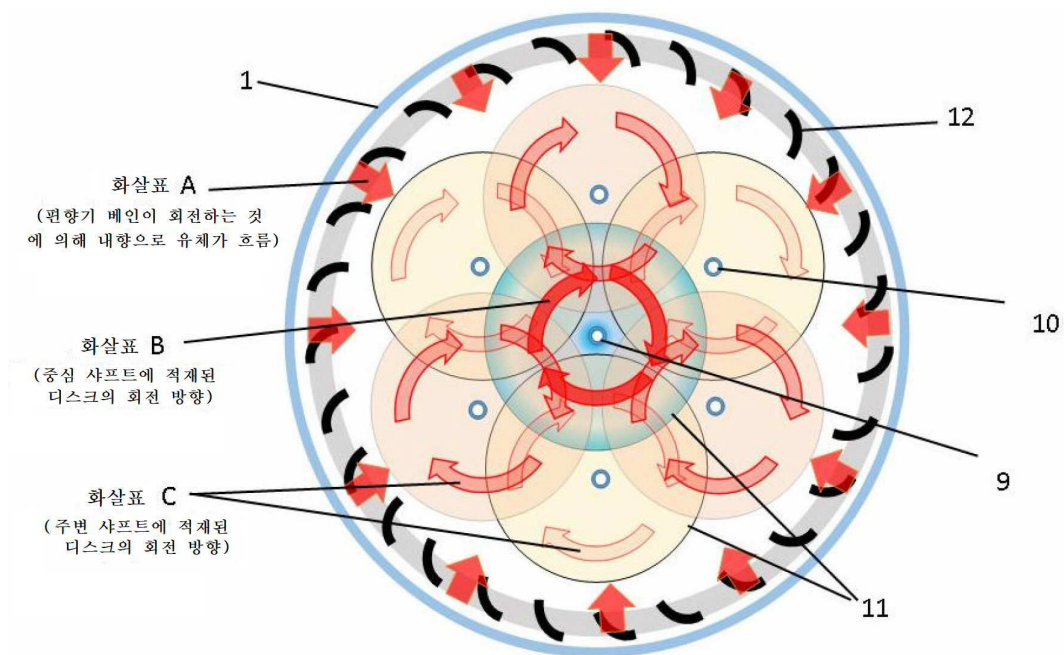
도면12c



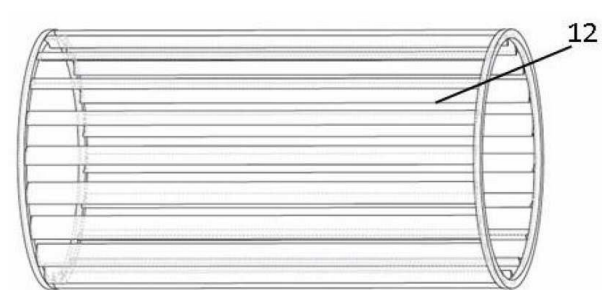
도면12d



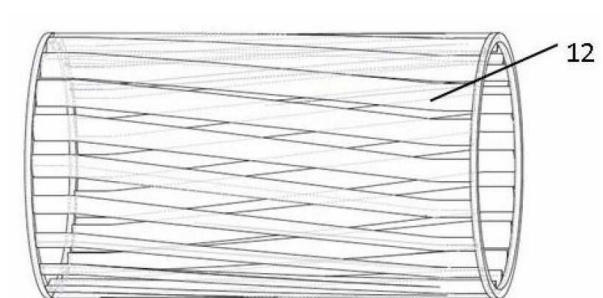
도면13



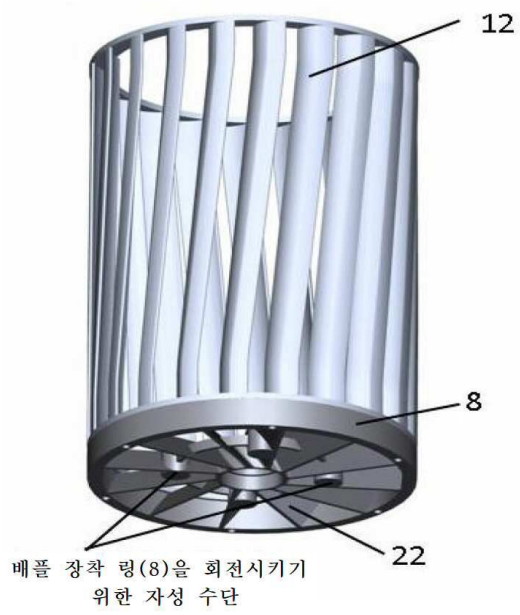
도면14a



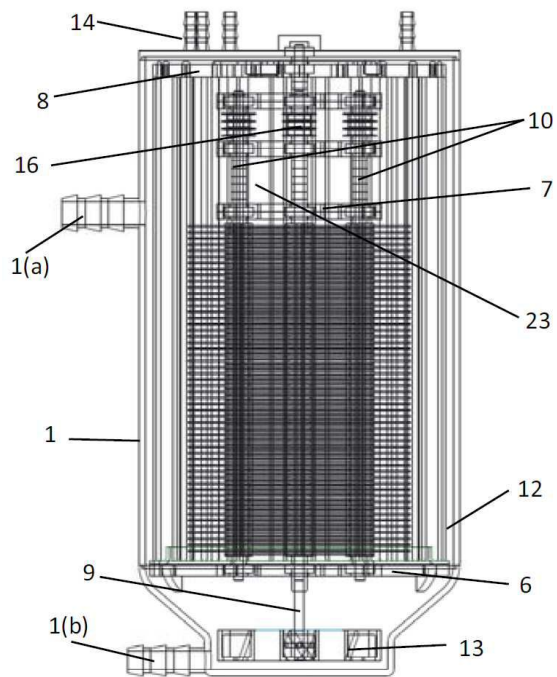
도면14b



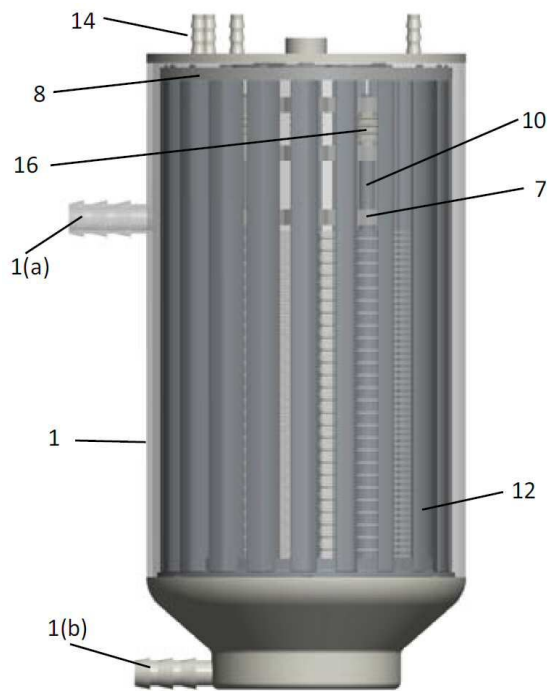
도면14c



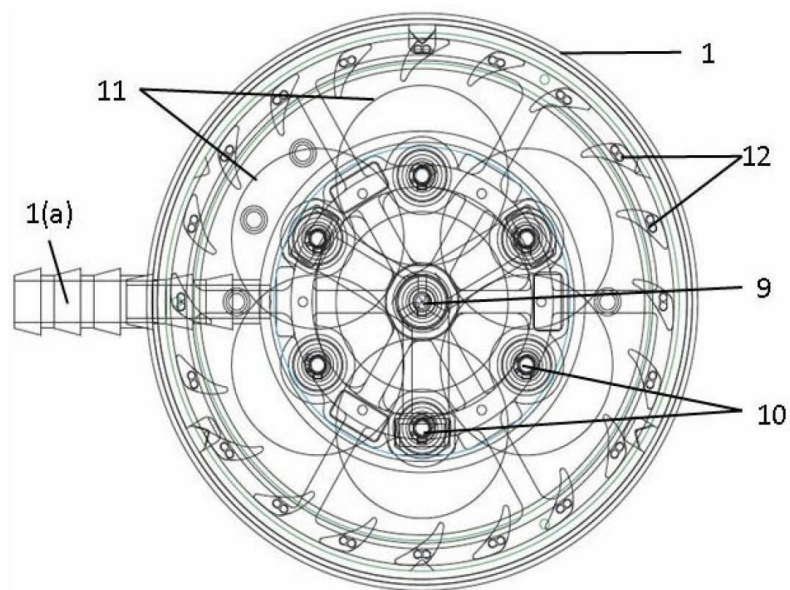
도면15a



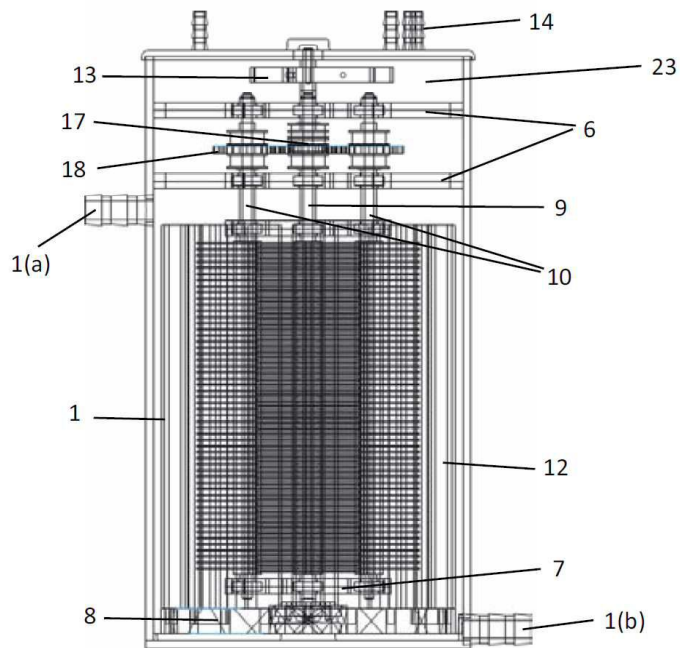
도면15b



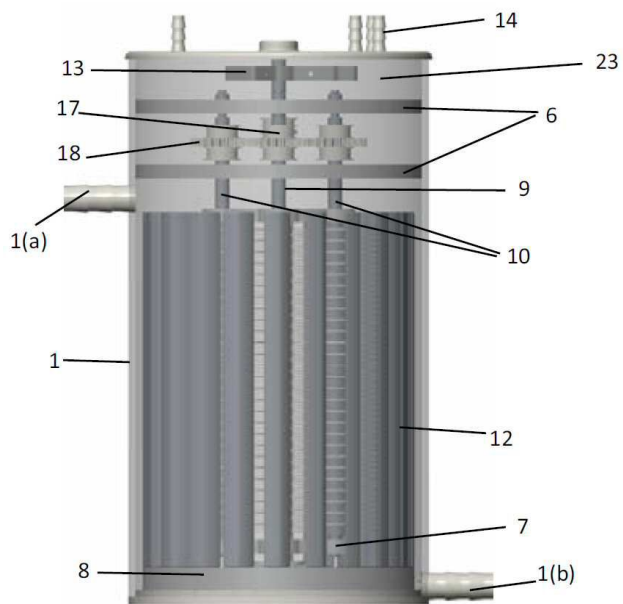
도면15c



도면16a



도면16b



도면16c

