

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2024年9月26日 (26.09.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/193113 A1

(51) 国际专利分类号:
C12M 1/06 (2006.01) G01N 33/52 (2006.01)
C12M 1/02 (2006.01) C12Q 1/04 (2006.01)
C12M 1/36 (2006.01) C12Q 1/06 (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01) C12R 1/19 (2006.01)
G01N 21/85 (2006.01)

南山区深圳大学城学苑大道 1068 号,
Guangdong 518055 (CN)。

(72) 发明人: 傅雄飞(FU, Xiongfei); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。程松涛(CHENG, Songtao); 中国广东省深圳市南山区深圳大学城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/137655

(22) 国际申请日: 2023年12月8日 (08.12.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202310275492.4 2023年3月21日 (21.03.2023) CN

(74) 代理人: 北京中巡通大知识产权代理有限公司 (BEIJING ZHONG XUN TONG DA INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO., LTD.); 中国北京市西城区西直门外大街1号院2号楼7层7C1, Beijing 100044 (CN)。

(71) 申请人: 中国科学院深圳先进技术研究院 (SHENZHEN INSTITUTES OF ADVANCED TECHNOLOGY CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国广东省深圳市

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ,

(54) Title: CONTINUOUS-CULTURE TURBIDOSTAT AND USE THEREOF IN MEASURING BACTERIAL GROWTH AND BACTERIAL CELL CYCLE

(54) 发明名称: 一种连续培养恒浊器及其在测量细菌生长和细菌细胞周期中的应用

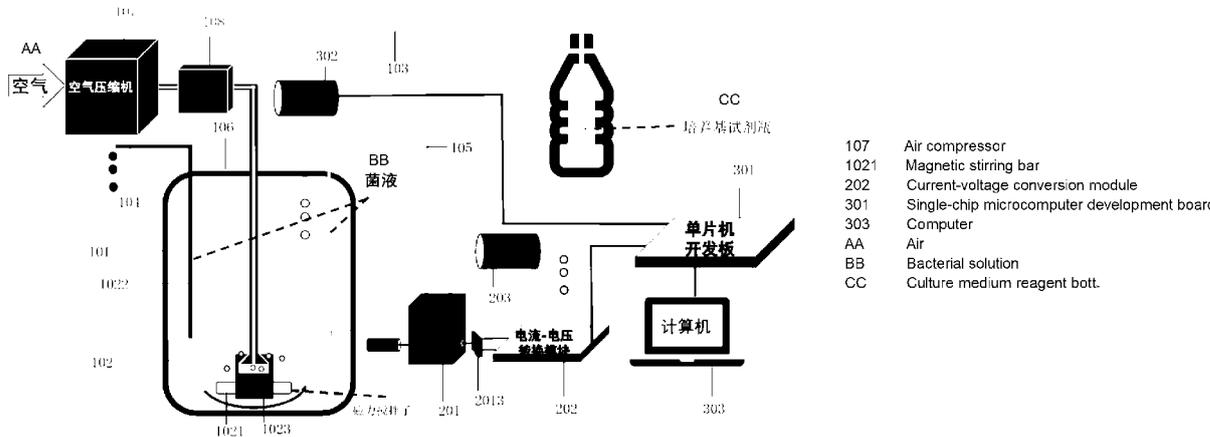


图 1

(57) Abstract: Provided are a continuous-culture turbidostat and a use thereof in measuring bacterial growth and a bacterial cell cycle, relating to the technical field of microbiology. Provided is a continuous-culture turbidostat, comprising a tank body structure, a bacterial concentration measurement device and a control system which are connected to each other. The tank body structure comprises a tank body container, a stirrer arranged in the tank body container, and a feeding pipe, a bacteria outlet pipe and a ventilation pipe for connecting the tank body container to the outside; the bacterial concentration measurement device comprises a bacterial concentration measurer which is connected to a current-voltage conversion module; the control system comprises a single-chip microcomputer development board connected to the current-voltage conversion module, one end of the single-chip microcomputer development board being connected to the feeding pipe by means of a second peristaltic pump. The turbidostat can achieve the growth of bacteria in a stable state, so as to carry out the research on bacterial cell cycles, and can achieve the accurate measurement and control of bacterial concentrations, so as to ensure the stability of bacterial growth environments and the accuracy of experimental data.



WO 2024/193113 A1

IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ,
LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN,
MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA,
PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚
(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE,
BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR,
HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO,
PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN,
TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(57) 摘要: 提供了一种连续培养恒浊器及其在测量细菌生长和细菌细胞周期中的应用, 属于微生物学技术领域。提供了连续培养恒浊器, 包含相互连接的罐体结构、细菌浓度检测装置和控制系统; 罐体结构包括罐体容器, 设置于罐体容器中的搅拌器, 将罐体容器与外界相连的进料管、出菌管和通气管; 细菌浓度检测装置包括细菌浓度检测器与电流-电压转换模块相连; 控制系统包括与电流-电压转换模块相连的单片机开发板, 单片机开发板的一端通过第二蠕动泵连接进料管。该恒浊器能够实现细菌在稳定状态下的生长, 以便进行细菌细胞周期相关的研究; 实现对细菌浓度的精准检测和控制, 以保证细菌生长环境的稳定和实验数据的准确性。

一种连续培养恒浊器及其在测量细菌生长和细菌细胞周期中的应用

技术领域

本发明属于微生物学技术领域，具体涉及一种连续培养恒浊器及其在测量细菌生长和细菌细胞周期中的应用。

背景技术

测量细菌生长的传统方法包括从培养物中取样并使用分光光度法测量细胞密度或使用显微镜对细胞进行计数。然而，这些方法非常耗时，会破坏生长环境，并且可能无法准确反映培养物中的真实细胞密度。

恒浊器的开发是为了解决上述问题。恒浊器是一种连续培养系统，通过不断调整新鲜培养基进入培养容器的流速，并去除等量的废培养基来维持恒定的细胞密度。这使得其中具有稳定的细菌生长条件，使用浊度计实时监测细胞密度，浊度计可测量培养物的光密度。

然而，在恒浊器中使用的传统磁力搅拌棒会导致细胞培养中断，尤其是当细胞对剪切应力敏感时。这导致了避免损坏细胞新技术的发展，例如，气升式发酵罐和 Rushton (拉什顿) 叶轮，它们使用不同类型的搅拌来避免损坏细胞。例如，Cellstat (细胞状态) 系统恒浊器，使用摇摆运动来提供搅动并避免干扰细胞培养，具有用于测量培养物的光密度的单独腔室。但 Cellstat 系统的搅动方法可能不如其他方法有效，并且可能导致整个培养容器的生长速率不一致。此外，Cellstat 系统不能为培养物提供新鲜空气，这可能会限制其为某些细菌物种维持最佳生长条件的能力。

另一方面，现有的恒浊器技术采用复杂的光学测量技术来测量培养物的光密度，如菌液通过微流控芯片下显微观察细菌浓度等，与简单的比浊法相比，这可能更容易出错并且需要更多的校准。

PID 全称比例 (proportion)-积分 (integral)-微分 (derivative) 控制器。PID 代表“比例-积分-微分”，它是过程控制系统中用于调节和稳定过程输出的

控制算法。它是使用最广泛的控制算法之一，用于各种应用，例如温度控制、速度控制、液位控制等。

PID 算法由三部分组成：比例控制、积分控制和微分控制。比例控制涉及根据所需设定点与当前过程值之间的差异乘以比例增益系数来调整输出。积分控制对随时间变化的误差进行积分，以帮助减少稳态误差。它涉及对随时间的误差求和并将其乘以积分增益因子。微分控制计算误差的变化率并相应地调整输出以帮助减少超调和振荡。它涉及对误差求导并将其乘以微分增益因子。

通过结合这三个组成部分，PID 算法可以根据所需设定值与实际过程值之间的误差调整控制信号，从而有效地调节和稳定过程的输出。

本发明旨在通过提供一种独特且简单的罐结构来解决上述现有技术的这些局限性和缺陷，本发明罐结构允许在不干扰细胞培养的情况下进行有效搅拌，以及具有空心搅拌轴为培养物提供新鲜空气。本发明的细菌浓度检测装置还提供了一种更加准确可靠的实时监测细胞密度的方法。总的来说，本发明旨在提供一种更高效和有效的方法来维持稳定的细菌生长和与细菌细胞周期相关的研究课题。

发明内容

针对上述现有技术中存在的问题，本发明的目的在于设计提供一种连续培养恒浊器及其在测量细菌生长和细菌细胞周期中的应用。本发明通过设计独特的罐体结构和细菌浓度检测装置，成功地解决了上述技术问题。罐体结构避免了摩擦对细菌的影响，同时提供新鲜空气，使得细菌在恒定的环境下进行生长。而细菌浓度检测装置则保证了细菌浓度的精准检测和控制，从而保证了实验数据的准确性。这些功能的组合提供了一种更有效的方法来维持稳定的细菌生长和研究与细菌细胞周期相关的主题，为细菌提供最佳生长条件并准确测量细菌浓度，从而可在微生物学领域进行更精确的实验和研究。

为了实现上述目的，本发明采用以下技术方案：

一方面，本发明提供了一种连续培养恒浊器，包含相互连接的罐体结构、细菌浓度检测装置和控制系统；

罐体结构包括罐体容器，设置于罐体容器中的搅拌器，将罐体容器与外界相连的进料管、出菌管和通气管；罐体结构可以在不干扰细胞培养的情况下进行有效搅拌。

细菌浓度检测装置包括细菌浓度检测器与电流-电压转换模块相连；可以准确监测细菌生长。

控制系统包括与电流-电压转换模块相连的单片机开发板，单片机开发板的一端通过第二蠕动泵连接进料管，可以准确调节细菌的生长条件。单片机开发板被编程为根据传感器的输入调节细菌营养供应，蠕动泵用于在必要时向培养物供应新鲜的营养液以及为比色皿提供流动的菌液。

所述的一种连续培养恒浊器，所述罐体容器的材料为透明材料，便于观察细菌生长情况。所述罐体结构包括密封盖，可以方便地接触细菌培养物而不会引入污染物。所述搅拌器为悬浮设置于罐体容器中，避免像磁力搅拌棒那样摩擦罐底的细菌。这种悬浮结构设计将搅拌棒悬浮在空中进行搅拌，而不是在罐底，可以避免摩擦细菌而造成损坏。

所述的一种连续培养恒浊器，所述搅拌器包括磁力搅拌子、中空管及用于固定连接磁力搅拌子和中空管的不锈钢轴，中空管与空气压缩机和精密压力控制器相连。设置中空管，使搅拌器的固定轴是空心的，可以同时具有搅拌和为细菌提供新鲜空气的功能。这种设计有助于保持细菌的最佳生长条件。气流由空气压缩机和精密压力控制器控制，可以精确调节空气供应。

所述的一种连续培养恒浊器，所述细菌浓度检测器包括 LED 同轴光源、与 LED 同轴光源相连的具有细孔道的流动比色皿和硅光电二极管。该细菌浓度检测器通过毛细管将细菌液体从培养容器中抽出，并进入带有细通道的微量比色皿中。并且，通过 LED 同轴光源和硅光电二极管，可以实时准确测量细菌浓度。

当光源电压一定时，如果细菌浓度达到一定值，硅光电二极管产生的电流

就会达到一个值。然后电流-电压转换模块产生相应的电压传输给单片机开发板以确定细菌浓度是高于还是低于目标值。另外，单片机开发板还可以通过其配套的软件将数据传输给电脑，用户可以在电脑界面上查看电压值。软件界面显示有关细菌生长的实时数据，并允许用户根据需要调整生长条件，更改程序参数。

所述的一种连续培养恒浊器，所述流动比色皿通过第一蠕动泵控制提供流动的菌液。

所述的一种连续培养恒浊器，所述单片机开发板与计算机相连，单片机开发板通过配套软件将数据传输给计算机。

所述的一种连续培养恒浊器，所述控制系统根据 PID 算法控制罐体容器中的细菌浓度。

第二方面，本发明提供了一种测定细菌细胞周期的方法，利用任一项所述的连续培养恒浊器进行测定细菌细胞周期。

第三方面，本发明提供了任一项所述的连续培养恒浊器在细菌细胞周期测定中的用途；

优选，细菌为大肠杆菌。

第四方面，本发明提供了任一项所述的连续培养恒浊器在检测细菌对抗生素的敏感性、生产微生物产品、监测环境中细菌污染中的用途。

与现有技术相比，本发明具有以下有益效果：

本发明为研究细菌细胞周期相关主题提供了一种更精确和可靠且更廉价的方法。能够实现细菌在稳定状态下的生长，以便进行细菌细胞周期相关的研究。实现对细菌浓度的精准检测和控制，以保证细菌生长环境的稳定和实验数据的准确性。这些优势可以带来更一致、更可靠的结果，有利于研究和其他应用。具体地：

1、独特的悬浮式搅拌棒罐体结构，避免了在罐底搅拌时摩擦细菌，这有利于细菌的稳定生长，防止搅拌过程中对细菌细胞的损伤，使结果更加一致可靠。

相比于传统生物反应器的罐体，成本更加低廉，只需要普通的广口试剂瓶以及对四聚氟乙烯进行简单的机床加工就可以得到反应罐所需的所有零部件。

2、搅拌轴的固定轴是中空的，使得搅拌子同时实现搅拌和为细菌提供新鲜空气的双重功能，有助于细菌的充分利用培养液中的营养成分进行生长。

3、细菌浓度检测装置设计了独特的细菌浓度检测装置，包括微量比色皿、LED 光源以及硅光电二极管等组件，可实时、精确地监测细菌浓度，从而更好地控制培养条件，有利于研究细菌的生长和生命周期。

4、在检测装置中使用微量比色皿、LED 光源和硅光电二极管是一种比现有技术中使用的其他方法更精确和有效的方法。

附图说明

图 1 为恒浊器结构示意图；

图 2 为光源-比色皿-光电传感器细菌浓度检测装置；

图 3 为单片机开发板配套软件中显示的细菌浓度对应的电压值；

图 4 为 PID 算法的流程示意图；

图 5 为恒浊器正在运行的图片；

图 6 为对恒浊器的菌液进行多次取样，并在分光光度计中测量细菌的光密度值，得到细菌浓度随时间的变化表；

其中，1-罐体结构，101-罐体容器，102-搅拌器，1021-磁力搅拌子，1022-中空管，1023-不锈钢轴，103-进料管，104-出菌管，105-通气管，106-密封盖，107-空气压缩机，108-精密压力控制器，2-细菌浓度检测装置，201-细菌浓度检测器，2011-LED 同轴光源，2012-流动比色皿，2013-硅光电二极管，202-电流-电压转换模块，203-第一蠕动泵，3-控制系统，301-单片机开发板，302-第二蠕动泵，303-计算机。

具体实施方式

以下将通过附图和实施例对本发明作进一步说明。

实施例1：

一种连续培养恒浊器，包含相互连接的罐体结构1、细菌浓度检测装置2和控制系统3；

罐体结构1包括罐体容器101，设置于罐体容器101中的搅拌器102，将罐体容器101与外界相连的进料管103、出菌管104和通气管105；罐体容器101的材料为透明材料；罐体结构1包括密封盖106；搅拌器102为悬浮设置于罐体容器101中。搅拌器102包括磁力搅拌子1021、中空管1022及用于固定连接磁力搅拌子1021和中空管1022的不锈钢轴1023，中空管1022与空气压缩机107和精密压力控制器108相连。具有同时搅拌和为细菌提供新鲜空气的功能，有助于保持细菌的最佳生长条件。

细菌浓度检测装置2包括细菌浓度检测器201与电流-电压转换模块202相连；细菌浓度检测器201包括LED同轴光源2011、与LED同轴光源2011相连的具有细孔道的流动比色皿2012、硅光电二极管2013。流动比色皿2012通过第一蠕动泵203控制提供流动的菌液。通过通气管105将细菌液体从罐体容器101中抽出，并进入带有细通道的流动比色皿2012中，实时准确测量细菌浓度。

控制系统3包括与电流-电压转换模块202相连的单片机开发板301，单片机开发板301的一端通过第二蠕动泵302连接进料管103。单片机开发板301与计算机303相连，单片机开发板301通过配套软件将数据传输给计算机303。控制系统根据PID算法控制罐体容器中的细菌浓度。

如图1所示，为本发明恒浊器的结构示意图，本发明恒浊器能够为细菌提供最佳生长条件并准确测量细菌浓度。

实际使用时，罐体结构1设计让搅拌器102悬浮进行搅拌，避免像现有技术磁力搅拌棒那样摩擦罐底的细菌。罐体容器101由透明材料制成，便于观察细菌生长情况。还配备了一个密封盖106，可以方便地接触细菌培养物而不会引入污染物。恒浊器的搅拌器102采用固定空心轴设计，具有搅拌和为细菌提供新鲜

空气的双重功能。搅拌器102由磁力搅拌子1021、不锈钢轴1023和向细菌提供空气的中空管1022组成。气流由空气压缩机107和精密压力控制器108控制，可以精确调节空气供应。

恒浊器设置的细菌浓度检测装置201，可以准确监测细菌生长。如图2所示，检测装置由带细孔道的流动比色皿2012、LED同轴光源2011、硅光电二极管2013。当光源电压一定时，如果细菌浓度达到一定值，硅光电二极管2013产生的电流就会达到一个值。然后电流-电压转换模块202产生相应的电压传输给单片机开发板301以确定细菌浓度是高于还是低于目标值。另外，单片机开发板301还可以通过其配套的软件将数据传输给计算机303，用户可以在计算机界面上查看电压值。如图3所示，界面中显示的电压除以2058乘以3.3即为实际电压值。软件界面显示有关细菌生长的实时数据，并允许用户根据需要调整生长条件，更改程序参数。

恒浊器配备了一个控制系统3，可以准确调节细菌的生长条件。控制系统3包括单片机开发板301和多个蠕动泵。单片机开发板301被编程为根据传感器的输入调节细菌营养供应，第一蠕动泵203用于为比色皿提供流动的菌液，第二蠕动泵302用于在必要时向培养物供应新鲜的营养液。

本发明利用的PID原理如图4所示，如下式(1)，其中规定(在 t 时刻)；输入量为 $r(t)$ ；输出量为 $c(t)$ ；偏差量为 $e(t)=r_{in}(t)-r_{out}(t)$ ；

$$u(x)=k_p(err(t)+\frac{1}{T}\int err(t)dt+\frac{T_p d err(t)}{dt}) \quad (1)$$

该算法用于为蠕动泵的步进电机调速，电机采用PWM调速转速用单位转/分钟表示。 $r_{in}(t)$ 为转速预定值；输出量 $r_{out}(t)$ 为电机转速实际值；执行器为步进电机。这使得控制系统的输入量 $r_{in}(t)$ 为转速预定值(转/分钟)；输出量 $r_{out}(t)$ 为转速实际值(转/分钟)；偏差量为预定值和实际值之差(转/分钟)。如下图5为恒浊器正在运行的图片。

实施例2:

1、装置的灭菌处理：

取两个贝克曼牌灭菌袋，用剪刀剪开两个洞，然后用封口膜与灭菌胶带封住剪开的口子，为了在后面的烘干时通气。将罐体容器101、进料管103，出菌管104，通气管105分别装入灭菌袋，封口。两个灭菌袋与装培养基的试剂瓶一同放入高压灭菌锅进行灭菌在 121摄氏度下对设备进行15-20分钟的灭菌。灭菌完成后，放入烘箱中烘干，去除装置内的水分。

2、细菌的培养与接种：

提前一夜在培养基中接种细菌过夜培养，第二天对细菌稀释100倍活化。使用试剂瓶与滤膜将培养基进行过滤。

细菌浓度到达0.3左右后，将细菌在高速离心机中在4摄氏度，转速3000转/分钟下进行离心，然后倒入培养基重悬。随后将反应罐的管线进行连接，将菌液倒入反应罐中，此操作在超净台中进行。

3、装置启动：

将反应罐放入水浴磁力搅拌锅当中，将管线与蠕动泵、试剂瓶、空气压缩机进行连接，随后接通电源，图5显示设备启动完成后的状态。

4、调节恒浊器参数：

要调整恒浊器参数，例如培养基流速和空气流速，可根据具体实验需要和要求进行调整。

实施例3：

1、数据收集与分析

在实验过程中，可以使用分光光度计实时监测细菌培养物的浊度，并可以使用计算机软件程序收集和分析数据。该程序可以绘制细菌的生长曲线，并提供有关细菌生长的迟滞期、指数期和稳定期的信息。将细菌多次取出，用分光光度计测量细菌每次在600纳米波长光下的光密度，结果如图6所示，这显示了恒浊器能够对细菌浓度稳定控制。

2、设备维护

每次使用后，应使用70%乙醇彻底清洁设备，并在存放前使其完全干燥。定期维护蠕动泵和空气压缩机也是必要的，以确保设备的正常运行。

3、故障排除

如果设备运行不正常，可以采取几个故障排除步骤。首先，检查所有连接是否牢固，电源是否正常工作。如果菌液浓度不稳定，检查培养基，确保菌液在倒入反应槽前混合均匀。

如果细菌浓度波动，检查蠕动泵和空气压缩机是否正常运行。

如果发生污染，请再次对设备进行消毒，并使用适当的无菌技术重复实验。

如果光密度读数不一致，请检查分光光度计校准并在每次测量前清洁比色皿。

通过实验、模拟和使用证明本发明是可行的，可行性测试表明，恒浊器可以提供稳定的细菌生长并保持恒定的细菌浓度，而细菌浓度检测装置将提供准确和精确的细菌浓度测量。本发明的悬浮搅拌棒、搅拌轴双重功能、细菌浓度检测装置等设计，使得细菌可以长期维持活性并生长和实时监测细菌浓度。

1、一种连续培养恒浊器，其特征在于，包含相互连接的罐体结构、细菌浓度检测装置和控制系统；

罐体结构包括罐体容器，设置于罐体容器中的搅拌器，将罐体容器与外界相连的进料管、出菌管和通气管；

细菌浓度检测装置包括细菌浓度检测器与电流-电压转换模块相连；

控制系统包括与电流-电压转换模块相连的单片机开发板，单片机开发板的一端通过第二蠕动泵连接进料管。

2、如权利要求 1 所述的一种连续培养恒浊器，其特征在于，所述罐体容器的材料为透明材料；所述罐体结构包括密封盖；所述搅拌器为悬浮设置于罐体容器中。

3、如权利要求 2 所述的一种连续培养恒浊器，其特征在于，所述搅拌器包括磁力搅拌子、中空管及用于固定连接磁力搅拌子和中空管的不锈钢轴，中空管与空气压缩机和精密压力控制器相连。

4、如权利要求 1 所述的一种连续培养恒浊器，其特征在于，所述细菌浓度检测器包括 LED 同轴光源、与 LED 同轴光源相连的具有细孔道的流动比色皿和硅光电二极管。

5、如权利要求 4 所述的一种连续培养恒浊器，其特征在于，所述流动比色皿通过第一蠕动泵控制提供流动的菌液。

6、如权利要求 1 所述的一种连续培养恒浊器，其特征在于，所述单片机开发板与计算机相连，单片机开发板通过配套软件将数据传输给计算机。

7、如权利要求 1 所述的一种连续培养恒浊器，其特征在于，所述控制系统根据 PID 算法控制罐体容器中的细菌浓度。

8、一种测定细菌细胞周期的方法，其特征在于，利用如权利要求 1-7 任一项所述的连续培养恒浊器进行测定细菌细胞周期。

9、如权利要求 1-7 任一项所述的连续培养恒浊器在测定细菌细胞周期，提供稳定的细菌生长环境中的用途；

优选，细菌为大肠杆菌。

10、如权利要求 1-7 任一项所述的连续培养恒浊器在检测细菌对抗生素的敏感性、生产微生物产品、监测环境中细菌污染中的用途。

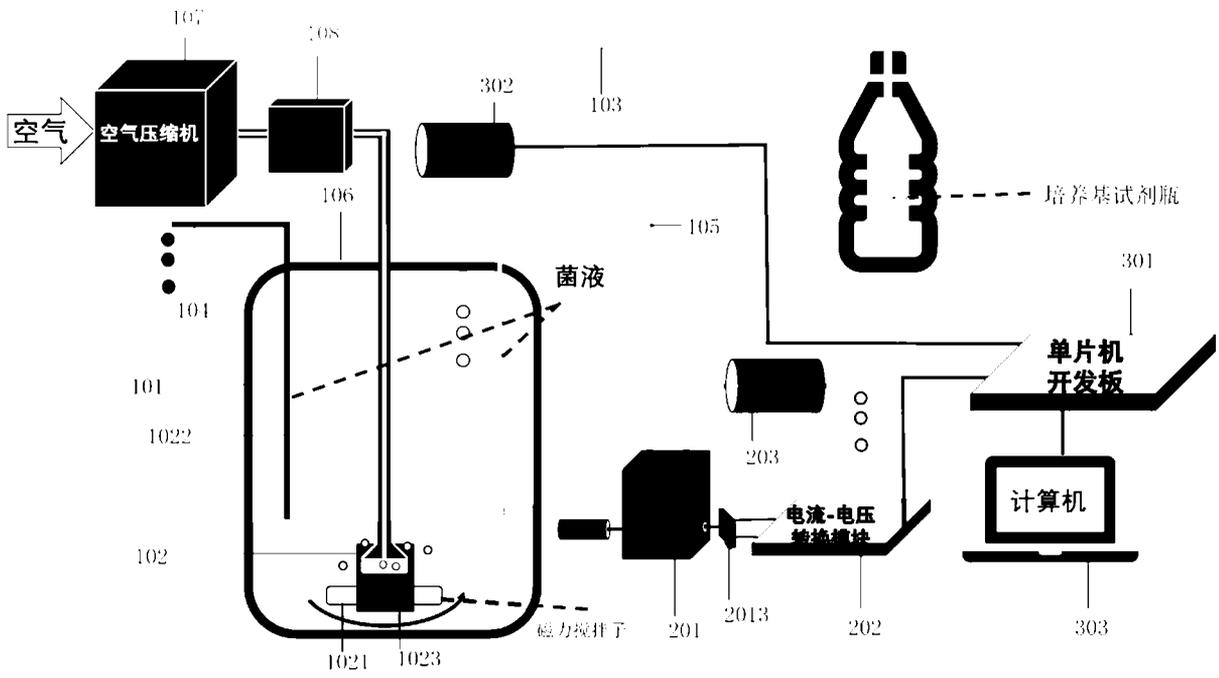


图 1

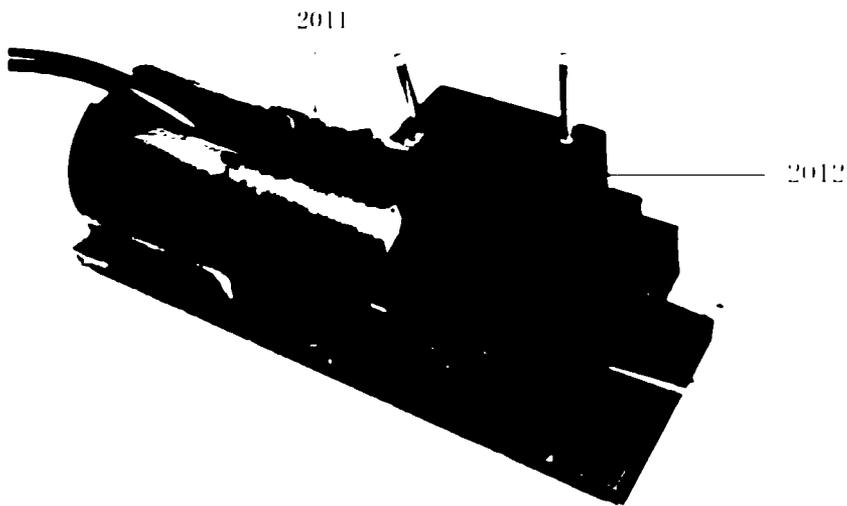


图 2



图 5



图 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/137655

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C12M1/06(2006.01)i; C12M1/02(2006.01)i; C12M1/36(2006.01)i; C12M1/34(2006.01)i; G01N21/85(2006.01)i; G01N33/52(2006.01)i; C12Q1/04(2006.01)i; C12Q1/06(2006.01)i; C12R1/19(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC:C12M,G01N,C12Q,C12R		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNTXT, ENTXT, VCN, DWPI, VEN, 超星读秀学术, DUXIU SCHOLAR, CNKI, 万方, WANFANG, ISI web of knowledge, Elsevier Science Direct, Springerlink, pubmed, 百度, BAIDU, 百度学术, BAIDU SCHOLAR, patentics: 中国科学院深圳先进技术研究院, SHENZHEN INSTITUTES OF ADVANCED TECHNOLOGY CHINESE ACADEMY OF SCIENCES, 傅雄飞, FU XIONGFEI, 程松涛, CHENG SONGTAO, 恒浊器, turbidostat, 连续培养, continuous culture, 单片机, single chip microcompute, 电压, 电流, current, voltage, 磁力搅拌, magnetic stirrer, 硅光电二极管, silicon photodiode, PID算法, proportion integration differentiation, 细胞周期, cell cycle, 大肠杆菌, E. coli		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 116333859 A (SHENZHEN INSTITUTES OF ADVANCED TECHNOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 27 June 2023 (2023-06-27) claims 1-10	1-10
Y	李友荣 等 (LI, Yourong et al.). "一, 连续培养系统 (Non-official translation: I. Continuous Culture System)" <i>发酵生理学 (Fermentation Physiology)</i> , 30 November 1989 (1989-11-30), page 323, paragraph 2, and figure 6.6	1-10
Y	张平之 等 (ZHANG, Pingzhi et al.). "一, 连续培养设备的类型 (Non-official translation: Type of Continuous Culture Device)" <i>微生物生化工程 (Non-official translation: Microbial Biochemical Engineering)</i> , 31 January 1995 (1995-01-31), page 56, paragraph 3-page 57, paragraph 1, and figures 3-20	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 25 March 2024		Date of mailing of the international search report 29 March 2024
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/137655

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 106290162 A (CHI BIOMEDICINE (SHENZHEN) TECHNOLOGY CO., LTD.) 04 January 2017 (2017-01-04) claim 1, description, paragraphs 14-15, and figure 1	1-10
Y	CN 101649292 A (SHANDONG POLYMER BIOCHEMICALS CO., LTD.) 17 February 2010 (2010-02-17) claims 1-3, and figure 1	3
Y	CN 101130751 A (SHANGHAI JIAO TONG UNIVERSITY) 27 February 2008 (2008-02-27) claims 1-4, description, page 3, paragraphs 3 and 2nd-to-last, and figures 1-2	4
A	DE 2548440 A1 (STRAHLEN UMWELTFORSCH G.M.B.H.) 05 May 1977 (1977-05-05) claims 1-2, and figure 1	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/137655

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	116333859	A	27 June 2023	None			
CN	106290162	A	04 January 2017	CN	106290162	B	06 September 2019
CN	101649292	A	17 February 2010	None			
CN	101130751	A	27 February 2008	CN	101130751	B	11 May 2011
DE	2548440	A1	05 May 1977	DE	2548440	B2	06 July 1978
				DE	2548440	C3	24 January 1980

<p>A. 主题的分类</p> <p>C12M1/06(2006.01)i; C12M1/02(2006.01)i; C12M1/36(2006.01)i; C12M1/34(2006.01)i; G01N21/85(2006.01)i; G01N33/52(2006.01)i; C12Q1/04(2006.01)i; C12Q1/06(2006.01)i; C12R1/19(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC:C12M,G01N,C12Q,C12R</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNTXT, ENTXT, VCN, DWPI, VEN, 超星读秀学术, CNKI, 万方, ISI web of knowledge, Elsevier Science Direct, Springerlink, pubmed, 百度, 百度学术, patentics; 中国科学院深圳先进技术研究院, SHENZHEN INSTITUTES OF ADVANCED TECHNOLOGY CHINESE ACADEMY OF SCIENCES, 傅雄飞, FU XIONGFEI, 程松涛, CHENG SONGTAO, 恒浊器, turbidostat, 连续培养, continuous culture, 单片机, single chip microcompute, 电压, 电流, current, voltage, 磁力搅拌, magnetic stirrer, 硅光电二极管, silicon photodiode, PID算法, proportion integration differentiation, 细胞周期, cell cycle, 大肠杆菌, E. coli</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 116333859 A (中国科学院深圳先进技术研究院) 2023年6月27日 (2023 - 06 - 27) 权利要求1-10</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>李友荣等. "一、连续培养系统" 发酵生理学, 1989年11月30日 (1989 - 11 - 30), 第323页第2段, 图6.6</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>张平之等. "一、连续培养设备的类型" 微生物生化工程, 1995年1月31日 (1995 - 01 - 31), 第56页第3段至第57页第1段, 图3-20</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 106290162 A (承启医学(深圳)科技有限公司) 2017年1月4日 (2017 - 01 - 04) 权利要求1, 说明书第14-15段, 图1</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 101649292 A (山东宝莫生物化工股份有限公司) 2010年2月17日 (2010 - 02 - 17) 权利要求1-3, 说明书附图1</td> <td>3</td> </tr> </tbody> </table> <p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "D" 申请人在国际申请中引证的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 116333859 A (中国科学院深圳先进技术研究院) 2023年6月27日 (2023 - 06 - 27) 权利要求1-10	1-10	Y	李友荣等. "一、连续培养系统" 发酵生理学, 1989年11月30日 (1989 - 11 - 30), 第323页第2段, 图6.6	1-10	Y	张平之等. "一、连续培养设备的类型" 微生物生化工程, 1995年1月31日 (1995 - 01 - 31), 第56页第3段至第57页第1段, 图3-20	1-10	Y	CN 106290162 A (承启医学(深圳)科技有限公司) 2017年1月4日 (2017 - 01 - 04) 权利要求1, 说明书第14-15段, 图1	1-10	Y	CN 101649292 A (山东宝莫生物化工股份有限公司) 2010年2月17日 (2010 - 02 - 17) 权利要求1-3, 说明书附图1	3
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
PX	CN 116333859 A (中国科学院深圳先进技术研究院) 2023年6月27日 (2023 - 06 - 27) 权利要求1-10	1-10																		
Y	李友荣等. "一、连续培养系统" 发酵生理学, 1989年11月30日 (1989 - 11 - 30), 第323页第2段, 图6.6	1-10																		
Y	张平之等. "一、连续培养设备的类型" 微生物生化工程, 1995年1月31日 (1995 - 01 - 31), 第56页第3段至第57页第1段, 图3-20	1-10																		
Y	CN 106290162 A (承启医学(深圳)科技有限公司) 2017年1月4日 (2017 - 01 - 04) 权利要求1, 说明书第14-15段, 图1	1-10																		
Y	CN 101649292 A (山东宝莫生物化工股份有限公司) 2010年2月17日 (2010 - 02 - 17) 权利要求1-3, 说明书附图1	3																		
国际检索实际完成的日期	2024年3月25日	国际检索报告邮寄日期	2024年3月29日																	
ISA/CN的名称和邮寄地址	中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	授权官员	李楠 电话号码 (+86) 010-53962096																	

C. 相关文件		
类型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 101130751 A (上海交通大学) 2008年2月27日 (2008 - 02 - 27) 权利要求1-4, 说明书第3页第3段和倒数第2段, 说明书附图1-2	4
A	DE 2548440 A1 (STRAHLEN UMWELTFORSCH GMBH.) 1977年5月5日 (1977 - 05 - 05) 权利要求1-2, 说明书附图1	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/137655

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	116333859	A	2023年6月27日	无			
CN	106290162	A	2017年1月4日	CN	106290162	B	2019年9月6日
CN	101649292	A	2010年2月17日	无			
CN	101130751	A	2008年2月27日	CN	101130751	B	2011年5月11日
DE	2548440	A1	1977年5月5日	DE	2548440	B2	1978年7月6日
				DE	2548440	C3	1980年1月24日