



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103224882 A

(43) 申请公布日 2013. 07. 31

(21) 申请号 201210021722. 6

(22) 申请日 2012. 01. 31

(71) 申请人 天津艾赛博生物技术有限公司

地址 300457 天津市滨海新区天津经济开发区洞庭路 220 号天津国际生物医药联合研究院 N602

(72) 发明人 张卫 魏先宇

(74) 专利代理机构 天津市北洋有限责任专利代理事务所 12201

代理人 陆艺

(51) Int. Cl.

C12M 3/00 (2006. 01)

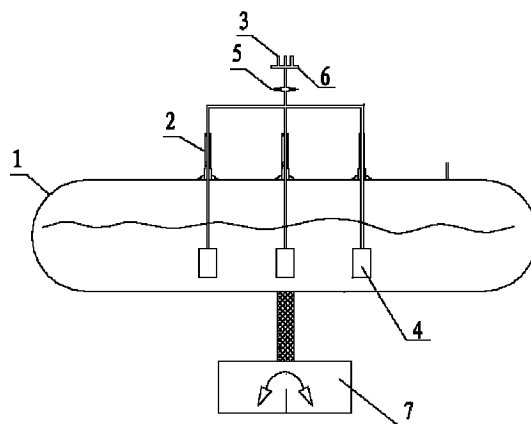
权利要求书1页 说明书4页 附图3页

(54) 发明名称

带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器

(57) 摘要

本发明公开了带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,包括袋体,所述袋体上设置有接种口、培养基进料口、进气口、出气口、取样口、传感器介入口和出料口,所述袋体的下面设置有造浪器,其特征是在所述袋体的袋壁上设置有 1-40 个安装接口,带有进气管的气体接头通过管路与除菌过滤器连接后再通过管路穿过所述安装接口与设置在所述袋体内的曝气头连接。本发明的反应器可以为细胞生长提供一个良好的供气。特别是对在细胞培养过程中耗氧速率高、培养细胞密度高及培养物黏度高的体系提供充分供氧,有利于实现高耗氧细胞培养的规模化放大和产业化,气体成本降低。同时对耗氧要求不高的细胞培养,可以提高反应器的有效培养体积,大大降低培养成本。



1. 一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,包括袋体,所述袋体上设置有接种口、培养基进料口、进气口、出气口、取样口、传感器介入口和出料口,所述袋体的下面设置有造浪器,其特征是在所述袋体的袋壁上设置有 1-40 个安装接口,带有进气管的气体接头通过管路与除菌过滤器连接后再通过管路穿过所述安装接口与设置在所述袋体内的曝气头连接。

2. 一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,包括袋体,所述袋体上设置有接种口、培养基进料口、进气口、出气口、取样口、传感器介入口和出料口,所述袋体的下面设置有造浪器,其特征是在所述袋体的袋壁上设置有 1-40 个安装接口,带有进气管的气体接头通过管路与除菌过滤器连接后再与安装接口的外端口连接,安装接口的内端口通过管路与设置在所述袋体内的曝气头连接。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,其特征是所述安装接口为 2-15 个。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,其特征是所述袋体的袋壁包括顶壁、侧壁和底壁,所述安装接口设置在所述顶壁、侧壁和底壁的至少一壁上。

5. 根据权利要求 1 或 2 所述的一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,其特征是所述曝气头为膜片式、棒式、散流式、管式、环管式或网格式曝气头。

6. 根据权利要求 1 或 2 所述的一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,其特征是曝气头的出气孔的孔径为 5-200 微米。

7. 根据权利要求 6 所述的一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,其特征是曝气头的出气孔的孔径为 50-100 微米。

带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器

技术领域

[0001] 本发明属于一次性波浪式生物反应器领域,更具体而言,本发明涉及一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器。

背景技术

[0002] 一次性波浪生物反应器是 1996 年以来发展起来的可用于多种细胞培养的设备。针对经典罐式生物反应器利用机械搅拌或气升式实现混合和供氧对细胞产生较高的剪切力而导致的细胞损伤,一次性波浪生物反应器在设计原理上摒弃了机械搅拌和气升式混合,尤其适用于对培养过程中混合和通气所产生的剪切力敏感的细胞培养。该反应器将细胞和培养液置于无菌的一次性细胞培养袋中,放在特殊设计的摇动平台上。平台的摇动在培养液中产生波浪。通过波浪代替搅拌和气升实现培养物的均匀混合,通过波浪使气体通过与培养物的表面接触更新实现氧气传递,从而产生一个低剪切力和相对高传氧效率的培养环境,实现细胞的高效培养生长和目标产物的生产。同时波浪生物反应器购置前已完成清洗、灭菌和认证,使用者一次性使用,这使操作十分轻松且避免交叉污染。在一次性波浪生物反应器中,波浪的产生可使培养液充分混合并使培养液通过气液表面更新含有细胞所需要的气体,并且这种混合十分轻柔可以培养各种微载体上的贴壁依赖型细胞。波浪运动可部分防止沉淀产生并在不产生泡沫下提供溶氧。

[0003] 一次性波浪生物反应器的应用与罐式生物反应器相比降低了后者初始的投资;可在劳动力、设备、厂房设计以及验证方面实实在在地节省可观的费用。它们干净、即买即用、不需要灭菌,因此也就减少了如冲洗用水系统(WFI)和蒸汽发生器检修的需求。一次性波浪生物反应器不需要后续的操作,消除了工艺流程运行之间交叉污染的可能性。因为减少或摒弃了对不锈钢设备的需求,也可以避免了设备组装的长周期和停工待料时间。系统的复杂度降低,因而所涉及的工程需求也同样减少。再也无需在位清洗(CIP)或在位灭菌(SIP)操作,以及相关的管道、阀门、控制器或容器的压力等级。此外,一次性波浪生物反应器的使用还降低了验证的复杂度。因为几乎没有可反复使用的组件,也就没有什么项目需要跟踪,也就节省了大量的灭菌、清洁验证研究。最后,通过消除了坚固的管道系统和固定发酵罐的限制,一次性波浪生物反应器还有利于实现更快速的改装以便用于新流程的运行和新产品的生产。此外,一次性波浪式生物反应器系统及辅助系统的复杂程度也较低,目前一次性波浪式生物反应器在培养规模方面可以达到 20-2000L。

[0004] 尽管一次性波浪式生物反应器有如上优势并已在蛋白、抗体和疫苗的动物细胞培养生产上获得广泛运用,但是针对在细胞培养过程中耗氧速率高、培养细胞密度高、培养细胞颗粒大易沉淀以及培养物黏度高的体系则难以满足培养过程对混合传质和供氧的要求,从而导致培养效率低甚至培养难以成功。同时依靠表面通气和表面气液混合实现供氧必需有一个大的比表面积,要实现充分的供氧反应器的有效装液系数一般都只有 1/3 到 1/2 的反应器体积,而经典的罐式生物反应器可达 80%以上。这种表面通气方式适用于小体积生物反应器的细胞培养,当使用超过 20L 甚至更大些的生物反应器时,表面提供气体的方

式难以满足细胞生长所需的气体供应,特别是难于满足高耗氧细胞的培养。同时表面更新供气造成大量的气体浪费,尤其在工业规模更为突出。上述问题与一次性波浪式生物反应器的发明原理与生俱来的,因此使得目前的一次性波浪式生物反应器成本高,应用仅局限于特别昂贵的产品,同时不适用细胞易于沉淀和对氧传递又较高需求的培养体系。

发明内容

[0005] 本发明的目的是克服现有技术的不足,提供一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器。

[0006] 本发明的另一个目的是提供第二种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器。

[0007] 一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,包括袋体,所述袋体上设置有接种口、培养基进料口、进气口、出气口、取样口、传感器介入口和出料口,所述袋体的下面设置有造浪器,在所述袋体的袋壁上设置有 1-40 个安装接口,带有进气管的气体接头通过管路与除菌过滤器连接后再通过管路穿过所述安装接口与设置在所述袋体内的曝气头连接。

[0008] 第二种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,包括袋体,所述袋体上设置有接种口、培养基进料口、进气口、出气口、取样口、传感器介入口和出料口,所述袋体的下面设置有造浪器,在所述袋体的袋壁上设置有 1-40 个安装接口,带有进气管的气体接头通过管路与除菌过滤器连接后再与安装接口的外端口连接,安装接口的内端口通过管路与设置在所述袋体内的曝气头连接。

[0009] 所述安装接口优选 2-15 个。

[0010] 所述袋体的袋壁包括顶壁、侧壁和底壁,所述安装接口设置在所述顶壁、侧壁和底壁的至少一壁上。

[0011] 所述曝气头为膜片式、棒式、散流式、管式、环管式或网格式曝气头。

[0012] 曝气头的出气孔的孔径较好的是 5-200 微米,优选为 50-100 微米。

[0013] 本发明的带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器可以为超过 20L 甚至更大些的生物反应器的细胞生长提供一个良好的供气。特别是对在细胞培养过程中耗氧速率高、培养细胞密度高、及培养物黏度高的体系提供充分的供氧,有利于实现高耗氧细胞培养的规模化放大和产业化,气体成本可节约 70%。同时对耗氧要求不高的细胞培养,可以提高反应器的有效培养体积,大大降低培养成本。本发明的带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器培养的细胞要好于现有技术典型的一次性波浪式生物反应器培养的细胞。

附图说明

[0014] 图 1 为现有技术的一次性波浪式生物反应器结构示意图。

[0015] 图 2 为本发明的带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器。

[0016] 图 3 为葡萄细胞在本发明的带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器和现有技术的一次性波浪式生物反应器中悬浮培养 7 天后收获细胞的绝对生长量。

[0017] 图 4 为葡萄细胞在本发明带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器和现有技术的一次性波浪式生物反应器中悬浮培养 7 天,其中不同的培养时间氧气的百分比含量。

[0018] 图 5 为葡萄细胞在本发明带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器和现有技术的一次性波浪式生物反应器中悬浮培养 7 天,本发明的生物反应器比现有技术的一次性波

浪式生物反应器溶氧值要高 2-3mg/L。

[0019] 图 6 为葡萄细胞在本发明带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器和现有技术的一次性波浪式生物反应器中悬浮培养 7 天,可以看到带有本发明的反应器比现有技术的反应器培养的细胞的花青素高出 4.4 倍。

具体实施方式

[0020] 下面结合附图对本发明作进一步的说明。

[0021] 一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器(见图 2),包括袋体 1,袋体上设置有接种口、培养基进料口、进气口、出气口、取样口、传感器介入口和出料口,袋体的下面设置有造浪器 7,在袋体的袋壁上设置有 1-40 个安装接口 2,带有进气管 3 的气体接头 6 通过管路与除菌过滤器 5 连接后再通过管路穿过所述安装接口与设置在袋体内的曝气头 4 连接。

[0022] 第二种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,包括袋体,所述袋体上设置有接种口、培养基进料口、进气口、出气口、取样口、传感器介入口和出料口,所述袋体的下面设置有造浪器,在所述袋体的袋壁上设置有 1-40 个安装接口,带有进气管的气体接头通过管路与除菌过滤器连接后再与安装接口的外端口连接,安装接口的内端口通过管路与设置在所述袋体内的曝气头连接。

[0023] 安装接口优选 2 个、3 个、4 个……15 个。

[0024] 袋体的袋壁包括顶壁、侧壁和底壁,安装接口可以设置在顶壁上,也可以设置在侧壁上,也可以设置在底壁上,也可以根据需要同设置在顶壁和侧壁上或同时设置在顶壁和底壁上或同时设置在侧壁和底壁上,还可发同时设置在顶壁、侧壁和底壁上。

[0025] 根据细胞培养的需求,选用不同形式的曝气头,可以选膜片式、棒式、散流式、管式、环管式或网格式曝气头。

[0026] 曝气头的出气孔的孔径较好的是 5-200 微米,优选为 50-100 微米。

[0027] 本发明在只使用表面通气的一次性波浪式生物反应器中同时引入液下的通气,针对高耗氧需求的细胞培养以解决其供氧不足的问题。气体接头上的进气管可以是多个,可以与多种气源连接,根据培养需求通入单一或者混合的气体成分。根据细胞培养对气体成分的需求可以调节气体组成成分、曝气头形式、曝气头在培养液中的分布。

[0028] 下面通过具体实施例对本发明作进一步的说明。

[0029] 实施例 1

[0030] 葡萄细胞培养

[0031] 现有技术的一次性波浪式生物反应器型号为 20L,本发明的带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器也为 20L,但细胞的培养体积不同,本发明的带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器培养细胞 30L,现有技术的一次性波浪式生物反应器培养细胞 20L,葡萄细胞的各项指标均合格,但带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器的细胞绝对生长量要比现有技术正常的一次性波浪式生物反应器的细胞绝对生长量高 50%。见图 3,图中所示为葡萄细胞在带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器和现有技术的一次性波浪式生物反应器中悬浮培养 7 天后收获细胞的绝对生长量。

[0032] 本实施例采用的是第一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,经实验,第

二种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器用于细胞培养也具有相似的效果。

[0033] 实施例 2

[0034] 葡萄细胞培养

[0035] 葡萄细胞在本发明 200L 带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器和 200L 现有技术的一次性波浪式生物反应器中悬浮培养 7 天,其中不同的培养时间氧气的百分比含量,可以明显得出本发明的 200L 带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器比现有技术的 200L 一次性波浪式生物反应器用氧量要节约 60%,见图 4。

[0036] 本实施例采用的是第一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,经实验,第二种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器用于细胞培养也具有相似的效果。

[0037] 实施例 3

[0038] 葡萄细胞培养

[0039] 葡萄细胞在本发明 200L 带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器和 200L 现有技术的一次性波浪式生物反应器中悬浮培养 7 天,可以明显看出本发明的曝气装置的一次性波浪式生物反应器比现有技术的反应器溶氧值要高 2-3mg/L。说明本发明的效果明显,优势突出,见图 5。

[0040] 本实施例采用的是第一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,经实验,第二种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器用于细胞培养也具有相似的效果。

[0041] 实施例 4

[0042] 葡萄细胞在本发明 200L 带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器和 200L 一次性波浪式生物反应器中悬浮培养 7 天,可以看到本发明的曝气装置的一次性波浪式生物反应器比现有技术的反应器培养的细胞的花青素高出 4.4 倍。解决了工业上细胞体积放大后细胞本身不产目标产物的难题,见图 6。

[0043] 本实施例采用的是第一种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器,经实验,第二种带有曝气装置的一次性波浪式生物反应器用于细胞培养也具有相似的效果。

[0044] 本发明是以培养葡萄细胞为例,是为了说明本发明的效果,但并不用于限制所培养的物质。

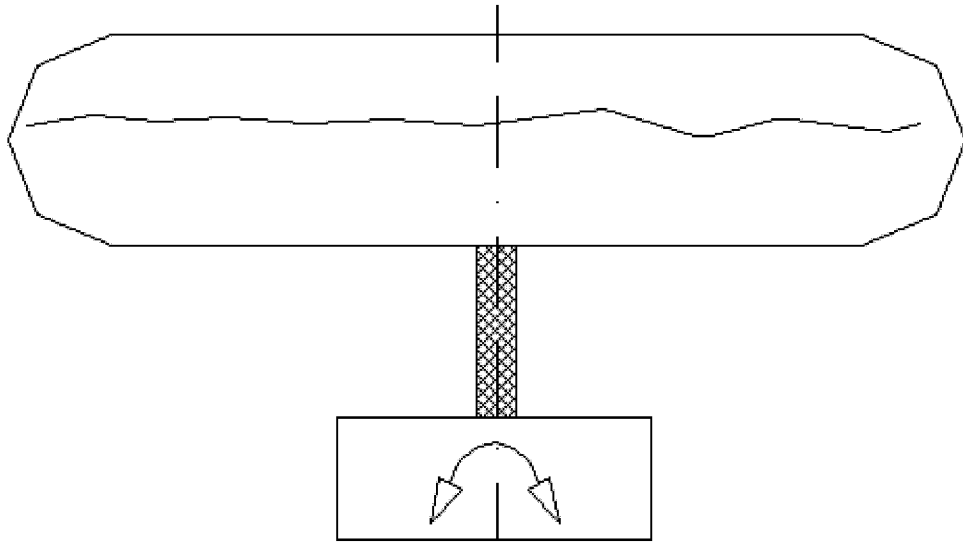


图 1

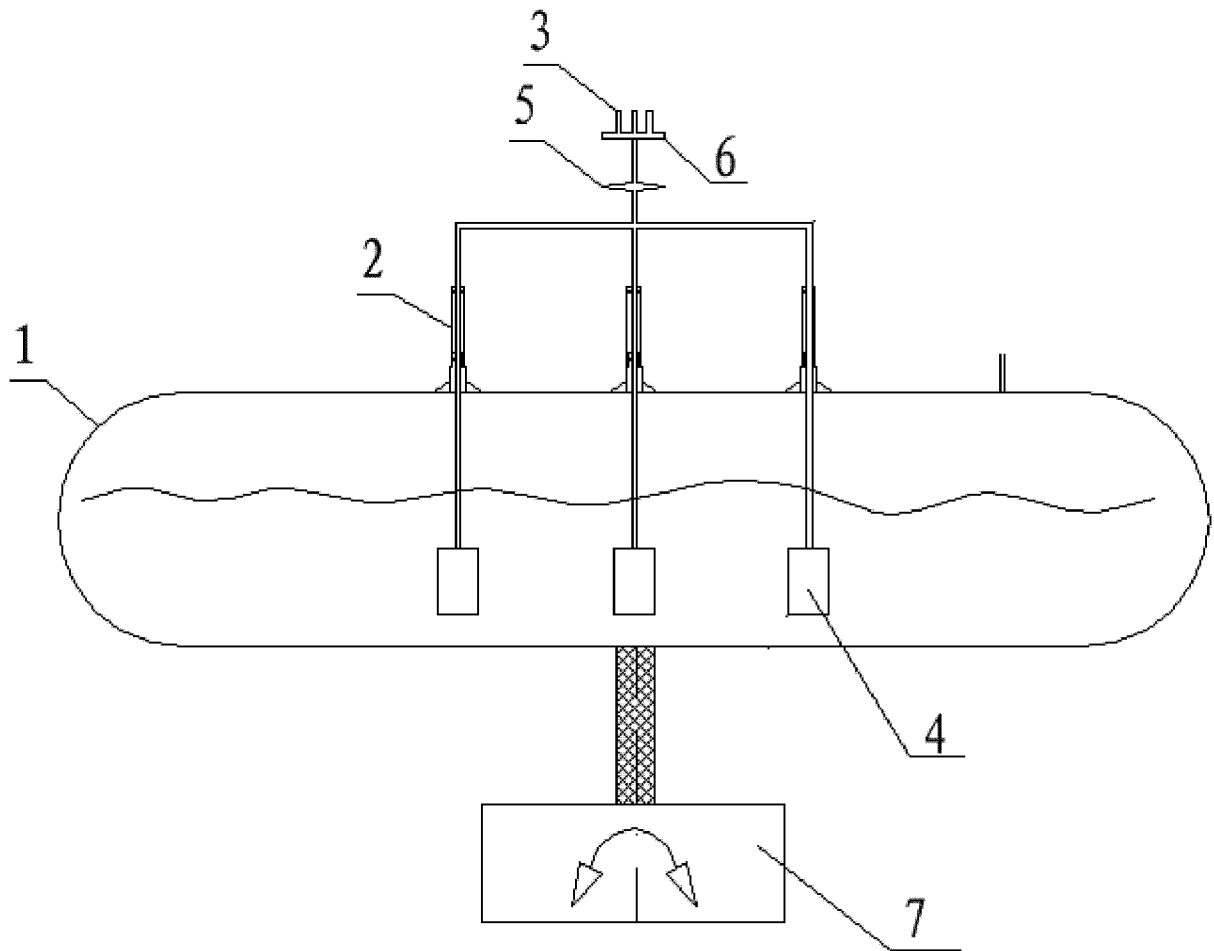


图 2

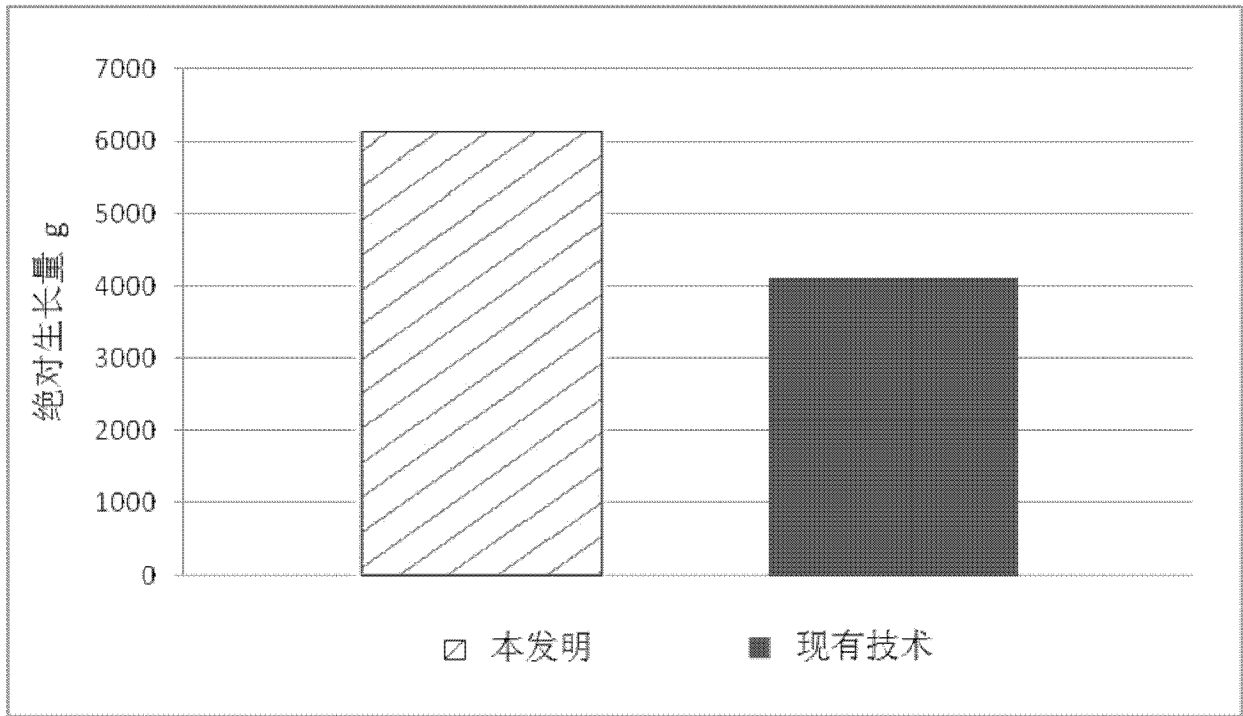


图 3

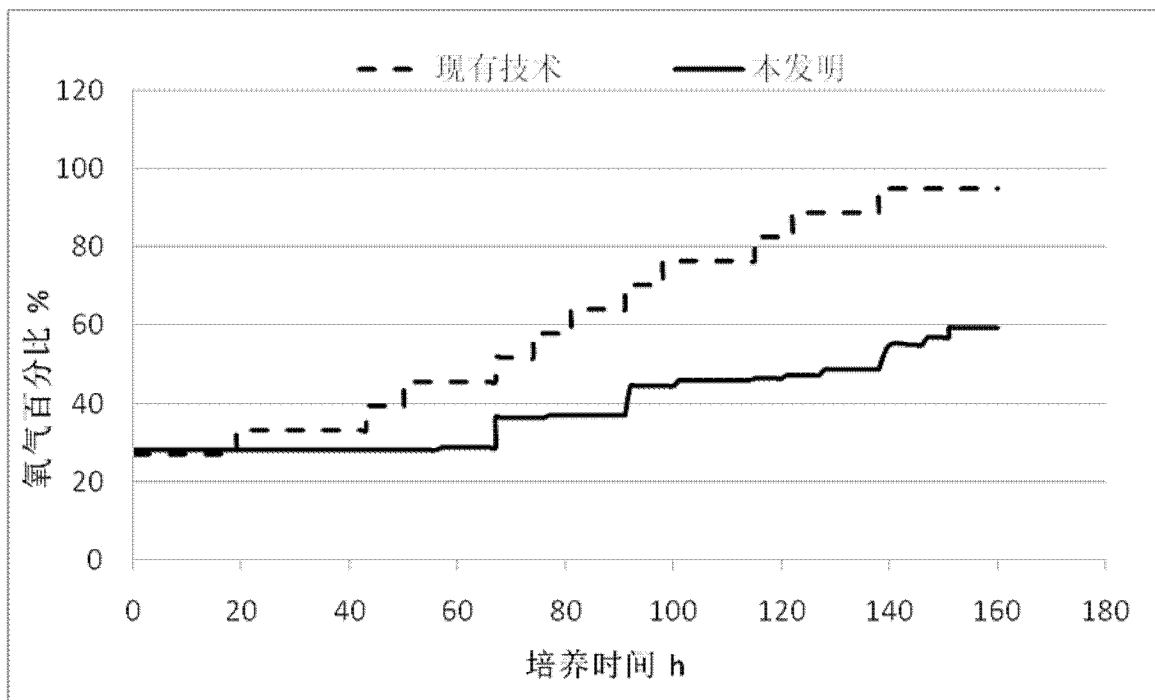


图 4

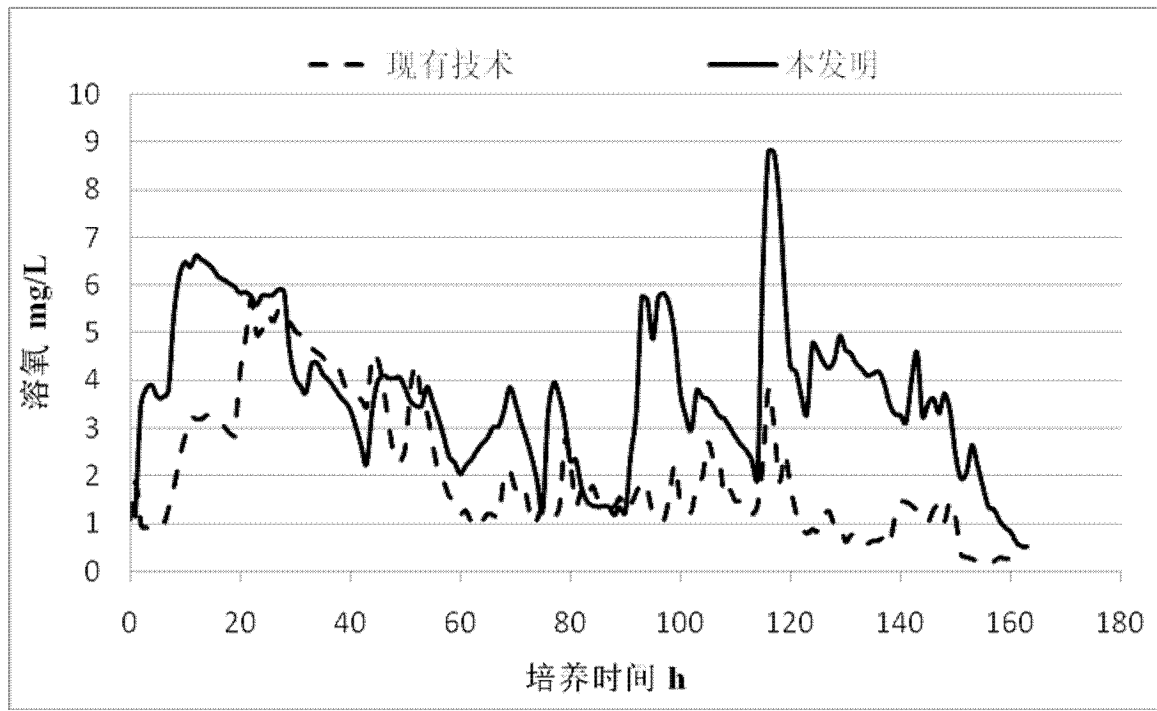


图 5

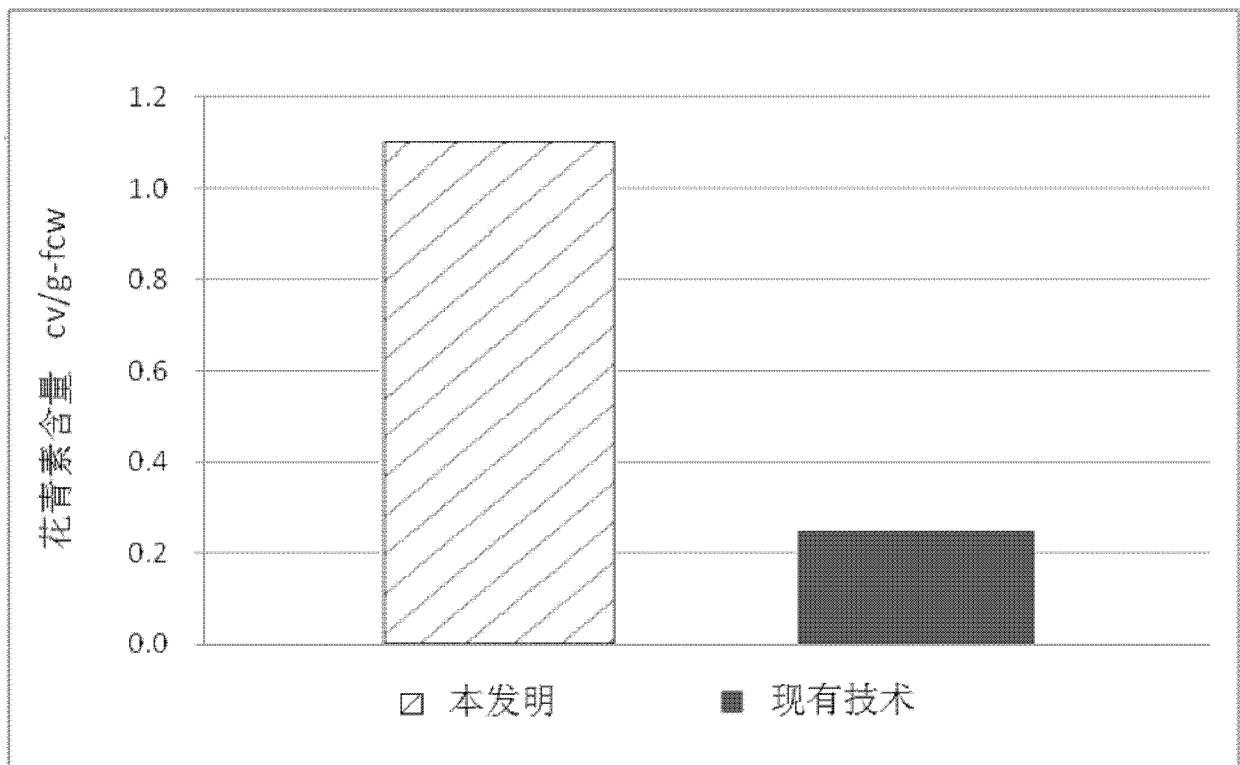


图 6