

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C12M 1/04 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680018941.1

[43] 公开日 2008 年 6 月 25 日

[11] 公开号 CN 101208420A

[22] 申请日 2006.5.26

[21] 申请号 200680018941.1

[30] 优先权

[32] 2005.5.30 [33] EP [31] 05011607.8

[86] 国际申请 PCT/EP2006/005033 2006.5.26

[87] 国际公布 WO2006/128641 英 2006.12.7

[85] 进入国家阶段日期 2007.11.29

[71] 申请人 诺华疫苗和诊断有限两合公司

地址 德国马尔堡

[72] 发明人 G·穆勒 J·范洛普

A·齐默尔曼

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 顾峻峰

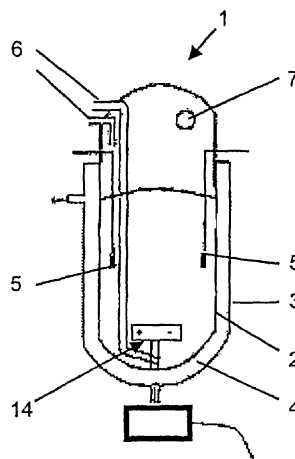
权利要求书 3 页 说明书 8 页 附图 3 页

[54] 发明名称

用于生物技术工艺的发酵罐系统

[57] 摘要

本发明公开了用于生物技术工艺、具体是培养细胞的发酵罐。通过具有封闭容器容积的外壁(2)，所述外壁(2)中开有观察窗(7)以检查容器容积内的过程，所述观察窗(7)具有透明器件(8)，所述透明器件(8)配备有加热装置的发酵罐容器(1)实现以下目的：提供可观察监测其内容积并可有效灭菌的发酵罐容器(1)。



1. 一种发酵罐容器(1), 其具有封闭容器容积的外壁(2), 所述外壁(2)中设有观察孔(7)以检查容器容积内的工艺过程, 所述观察孔(7)具有透明器件(8), 所述透明器件(8)配备有加热装置。

2. 如权利要求1所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述加热装置包括设置在所述容器容积之外的加热灯(9)。

3. 如权利要求1或2所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述加热装置包括设置在所述透明器件(8)表面上的电热丝(10)。

4. 如权利要求3所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述电热丝(10)设置在所述透明器件(8)的内表面上。

5. 如权利要求1-3中任一项所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述加热装置包括整合到所述透明器件(8)中的内部电热丝(12)。

6. 一种发酵罐容器(1), 其具有封闭容器容积的外壁(2), 在所述容器容积内设置有搅拌元件(14), 在所述容器(1)外设置有用转动所述搅拌元件(14)的驱动装置, 所述搅拌元件(14)配备有第一磁性元件(17), 所述驱动装置配备有第二磁性元件(20), 其中所述第一磁性元件(17)和所述第二磁性元件(20)通过磁力偶联。

7. 如权利要求6所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述搅拌元件(14)包括搅拌器轴(16), 所述第一磁性元件(17)安装在所述搅拌器轴(16)上。

8. 如权利要求7所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述驱动装置包括驱动轴(21), 所述第二磁性元件(20)安装在所述驱动轴(21)上。

9. 如权利要求8所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述搅拌器轴(16)和驱动轴(21)沿转动轴线延伸。

10. 如权利要求6-9中任一项所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述容器(1)在外壁(2)中具有凹部(18), 所述凹部(18)带有凸出到所述容器容积中的环形壁(19), 其中所述第二磁性元件(20)设置于所述凹部(18)内。

11. 如权利要求10所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述第一磁性元件(17)设置于与环形壁(19)相邻处。

12. 如权利要求6-11中任一项所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述容器(1)还包括权利要求1-5中任一项所述的特征。

13. 一种发酵罐容器(1), 其具有封闭容器容积的外壁(2), 所述外壁(2)包括: 用于将气体或液体引入该容器容积或者从该容器容积中抽取气体或液体的入口(6); 以及通向气体或液体供料装置的连接管; 其中所述连接管包括沿第一轴线(23)延伸的第一部分(22)、连接于所述第一部分(22)并沿第二轴线(25)延伸的第二部分(24)和连接于所述第二部分(24)并沿第三轴线(27)延伸的第三部分(26), 所述第二轴线(25)与所述第一轴线(23)基本垂直, 所述第三轴线(27)与所述第一轴(23)平行并间隔一定距离。

14. 如权利要求 13 所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述第二部分包括一接头。

15. 如权利要求 14 所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述接头包括入口阀(28)。

16. 如权利要求 13-15 中任一项所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述第三部分(26)连接于所述容器容积。

17. 如权利要求 13-16 中任一项所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述容器(1)还包括权利要求 1-5 中任一项所述的特征。

18. 如权利要求 13-17 中任一项所述的发酵罐容器(1), 其特征在于, 所述容器(1)还包括权利要求 6-11 中任一项所述的特征。

19. 一种发酵罐系统, 其具有封闭容器容积的容器(1)和在所述发酵罐系统中分配液体的管道, 其中所述管道包括开关阀(31), 所述开关阀具有阀体(32)、多个出口螺栓(33)、从第一端(36)至第二端(37)贯穿所述阀体(32)的通管(35)、阀体(32)中的多个孔(34)和插入孔(34)中的多个阀件(38), 其中所述第一端(36)和第二端(37)与液体供给源相连通, 所述孔(34)与所述出口螺栓(33)连通, 所述孔(34)与所述通管(35)交叉。

20. 如权利要求 19 所述的发酵罐系统, 其特征在于, 所述阀体(32)整体成形。

21. 如权利要求 19 或 20 所述的发酵罐系统, 其特征在于, 所述系统包括权利要求 1-18 中任一项所述的发酵罐容器(1)。

22. 一种发酵罐系统, 其包括第一发酵罐容器(1a)、第二发酵罐容器(1b)以及连接于所述第一容器(1a)和所述第二容器(1b)的传输管(39), 其中所述传输管(39)连接于所述第一容器(1a)的底部和所述第二容器(1b)的底部。

23. 如权利要求 22 所述的发酵罐系统, 其特征在于, 所述传输管(39)中装设有传输阀(40a)。

24. 如权利要求 22 或 23 所述的发酵罐系统, 其特征在于, 所述第一容器(1a)配备有压力入口(41a), 用于将加压介质引入所述第一容器(1a)。

25. 如权利要求 22-24 中任一项所述的发酵罐系统, 其特征在于, 所述第二容

器(1b)的容积大于所述第一容器(1a)。

26. 如权利要求 22-25 中任一项所述的发酵罐系统, 其特征在于, 所述系统包括权利要求 1-18 中任一项所述的发酵罐容器(1)。

27. 如权利要求 22-26 中任一项所述的发酵罐系统, 其特征在于, 所述系统还包括权利要求 19 或 20 所述的特征。

28. 一种繁殖细胞的方法, 所述方法包括在权利要求 1-18 中任一项所述的发酵罐容器或权利要求 19-27 中任一项所述的发酵罐系统中培养细胞的步骤。

29. 一种制备病毒疫苗的方法, 所述方法包括在权利要求 1-18 中任一项所述的发酵罐容器或权利要求 19-27 中任一项所述的发酵罐系统中繁殖细胞的步骤。

30. 如权利要求 28 或 29 所述的方法, 其特征在于, 所述细胞是动物细胞。

31. 如权利要求 30 所述的方法, 其特征在于, 所述细胞选自: MDCK 细胞、Vero 细胞、per.C.6 细胞、鸡胚成纤维细胞(CEF)或 CHO 细胞。

32. 如权利要求 29-31 中任一项所述的方法, 其特征在于, 所述方法还包括分离所述细胞培养物中的病毒组分或病毒。

33. 如权利要求 32 所述的方法, 其特征在于, 所述方法还包括用获自所述细胞培养物的病毒组分或病毒配制疫苗。

用于生物技术的发酵罐系统

本发明涉及用于生物工艺技术、具体是培养细胞的发酵罐系统。

通常用生物反应器进行需氧或无氧培养动物或微生物细胞的生物工艺技术，该生物反应器，常常被称为发酵罐。在本文中，特定生物反应器的选择对工艺效率至关重要。考虑到有机体生长和代谢活性，发酵罐应提供最优条件。可购买相对较小的 1-10 升实验室规模发酵罐，以及高达 16,000 升或更大的工业规模发酵罐。发酵罐的准确大小取决于产品的年需求、所进行的工艺和操作模式。

术语"发酵罐"或"发酵罐系统"通常指可用于需氧或无氧培养细胞的装置。这种系统可包括一个或多个发酵罐容器，该容器以一定形式密封，以使容器的内容物与该系统外的环境隔开，从而避免发酵罐系统中培养的某些细胞培养物被污染。该容器包括数个连接于该容器的入口或出口，它们用于连接控制如培养基组分或氧气之类的液体或气体的引入和/或去除的管道和导管。这些连接于容器的管道和导管也是发酵罐系统的一部分。通常，用一个步骤将这些部分与容器一起进行清洁和消毒。

使用最广泛的发酵罐类型是搅拌釜容器。这种类型的反应器通常由圆柱形不锈钢容器组成，该容器顶端封闭，其中装有各种附件，例如阀门和管道(如用于测定探头或其它辅助设备)。

发酵罐系统的灭菌是操作成功的关键要求。具体说，在药用物质(如疫苗或活性剂)的生产中，必须排除对发酵罐中细胞培养物的任何污染。因此，整个发酵罐系统包括辅助设备和培养基在使用前灭菌。然而，已知的发酵罐都有某些结构缺陷，可能导致发酵罐系统在使用前灭菌不充分，进而可导致污染。或者，发酵罐中细胞培养物的污染可能由系统操作过程中的加工步骤引起。

就此而论，死角(deadleg)是目前采用的发酵罐系统中常见的污染源。死角通常指导管或管道或者更复杂的输送组合装置(如管道系统或管道网络)中没有被流经的液体或气体完全充满的部分死角。在发酵罐的灭菌过程中没有彻底触及这些部位，前一生产批次中残留的培养基可能残留于这些区域，进而可引起采用此系统进行后续发酵时产生培养物污染。特别是，管道系统的阀门区域常常无法彻底灭菌。因此，需要提供装配有无死角的阀门的发酵罐系统，以保证彻底灭菌。

在生物技术生产工艺中，常常需要通过目测封闭容器中的肉汤来监测该过程。因此，将观察孔安装在容器壁中，观察孔具有透明器件，通常是玻璃窗，使用者可透过此观察窗观察容器内部。由于透明窗口上的冷凝液，可能妨碍通过该窗口进行观察。迄今为止，现有技术已知在容器内安装一个从外面操作的刮水器以清洁该窗口。但结果是，使刮水器运动的连接线成为污染的原因，因为通常难以实现对连接线的有效灭菌。

因此，需要提供一种可观察监测其内容积并可有效灭菌的发酵罐容器。

用于培养细胞的生物反应器需要搅拌器以使细胞、营养物、气体和热均匀分布。在常规的发酵罐系统中，搅拌器轴直接由容器外驱动。由于这种结构，旋转式双机械密封上可能发生污染。在现有技术中，可利用两个环形对之间的无菌蒸汽冷凝物来避免发酵容器的污染。然而，已证明该方法也不适用于排除污染风险。这导致需要一种装有不妨碍该发酵罐灭菌的改进型搅拌器系统的发酵罐容器。

在发酵罐系统的灭菌过程中，将蒸汽导入该容器和管道系统中，导致发酵罐系统的材料温度显著升高。特别地，容器壁和管道系统由于温度升高而膨胀。此种膨胀导致材料中产生张力和应力，这可能产生断裂和裂纹。进而，污染可以发生于这些断裂和裂纹中，仅通过发酵罐系统的管道系统导入蒸汽难以清除这些污染。因此，需要一种在灭菌过程中形成裂纹和断裂的风险降低的发酵罐系统。

在细胞培养过程期间，常常优选将培养物肉汤从一个容器转移到另一个容器中，以扩增细胞数量。批量生产中的培养基仅能够在一代结束时产生 10 倍于初始细胞数的细胞数量。因此，细胞培养领域技术人员在第一个发酵罐容器中产生大量细胞。达到某种细胞密度时，将一部分细胞培养物转移到含有新鲜培养基的另一个发酵罐容器中。这种转移通常重复数次，而发酵罐容器容积随着每次转移不断增大。容积扩大的因数通常是 3-10。在现有技术中，采用促使液体在供料容器的方向上从一个容器流动的泵帮助转移。然而，这种转移会产生泡沫，这会通过产生剪切应力而损伤培养的细胞。因此，也需要提供一种在使用时能避免产生泡沫和剪切应力的发酵罐系统。

因此，根据现有技术，本发明的目的是分别提供克服上述缺点的发酵罐容器和发酵罐系统。

按照本发明的第一个方面，通过具有封闭容器容积的外壁的发酵罐容器实现此目的，所述外壁中开有观察孔以检查容器容积内的工艺过程，所述观察孔具有透明器件，所述透明器件配备有加热装置。

由于不需要穿过容器壁的机械连接线即可去除在透明器件内表面上形成的加热装置冷凝物，这降低了发酵罐系统被污染的风险。

在优选实施方式中，所述加热装置包括在透明器件表面上形成的电热丝。这样做的优点是可以用少量热能有效地加热透明器件的表面。在另一实施方式中，所述加热装置包括整合到透明器件内的内部电热丝，也能有效地加热该透明器件。

作为替代或附加的方式，设置在容器容积外的加热灯可用作加热装置来加热该透明器件。这种设置的优点是，无须改变透明器件，可使用普通的观察孔，这就允许对已经安装的观察孔进行翻新。

按照本发明的另一方面，可通过下述发酵罐容器实现上述目的：该发酵罐容器具有封闭容器容积的外壁，所述容器容积内设置有搅拌元件，所述容器外设置有驱动装置用于转动搅拌元件，所述搅拌元件带有第一磁性元件，所述驱动装置带有第二磁性元件，其中所述第一磁性元件和所述第二磁性元件通过磁力偶联。

由于磁性偶联，与采用穿过容器壁的轴进行机械偶联的现有技术相比显著降低了发酵罐系统被污染的风险。磁性偶联能够将所述容器内的搅拌器元件与所述容器外的驱动装置完全分离开。

在优选实施方式中，该搅拌元件包括其上安装有第一磁性元件的搅拌器轴。而且，所述驱动装置包括其上安装有第二磁性元件的驱动轴。

为了实现磁性元件之间良好的磁力偶联，优选该容器的外壁上有凹部，该凹部具有凸出到所述容器容积中的环形壁，其中所述第二磁性元件设置于该凹部内。此时，所述第一磁性元件设置于与环形壁相邻处。

上述目的是按照具有封闭容器容积的外壁的发酵罐容器实现的本发明第三方面，所述壁包括用于将气体或液体引入该容器容积或者从该容器容积中抽取气体或液体的入口以及通向气体或液体供料装置的连接管，其中所述连接管包括沿第一轴线延伸的第一部分、连接于所述第一部分并沿第二轴线延伸的第二部分和连接于所述第二部分并沿第三轴线延伸的第三部分，所述第二轴线与所述第一轴线基本垂直，所述第三轴线与所述第一轴平行并间隔一定距离。

在灭菌期间由于材料温度升高而引起这些部分膨胀时，由所述第一、第二和第三部分形成的环可沿这些部分弯曲。这降低了管道中的张力，从而降低了形成裂缝的风险。在优选的实施方式中，在所述第二部分中提供一连接件，其中所述连接件包括入口阀。通过这种构造，可保护入口阀免受系统灭菌过程中产生的张力和应力的影响。而且，通过这三个部分的构造，可以清扫入口阀和容器之间的连接。因此，

入口阀和容器之间的管道就不存在死角。

按照本发明的另一方面，发酵罐系统配备有封闭容器容积的容器和在发酵罐系统中分配液体的管道，其中所述管道包括开关阀，所述开关阀具有阀体、多个出口螺栓(stud)、贯穿阀体从第一端至第二端的通管、阀体中的多个孔和插入孔中的多个阀件，其中所述第一端和第二端与液体源相连通，所述孔与所述出口螺栓连通，所述孔与所述通管交叉。

由于所述孔和所述通管之间的直接连接是由通管与孔之间的交叉实现，本发明的阀没有在由蒸汽通过该通管而进行的蒸汽灭菌过程中无法到达的部分。此连接中，必须注意如果通管壁的一部分与孔交叉，在本发明意义上交叉已经存在。通管至孔的开口直接由阀件封闭，没有留下蒸汽通过管道时无法清扫的任何空间。

按照本发明的另一方面，提供了一种发酵罐系统，其包括第一发酵罐容器、第二发酵罐容器和连接所述第一容器和所述第二容器的传输管，其中所述传输管连接于所述第一容器的底部和所述第二容器的底部。

通过传输管，就有可能在所述第一容器中压力升高时将所述第一容器中的肉汤转移到所述第二容器中。在这种情况下，所述第一容器中升高的压力迫使部分肉汤通过传输管移动到所述第二容器中。此时，可省去泵，从而消除泵的泡沫产生效应。

在优选实施方式中，在传输管中提供了传输阀，它能控制容器之间的流动。而且，优选在所述第一容器的壁中提供压力入口，它能引入加压介质，优选压缩空气，以提高所述第一容器内的压力。

分别涉及发酵罐容器和系统的上述方面也可以各种可能的互相组合的方式应用。

下面参照附图描述本发明的优选实施方式，其中：

图 1 显示了本发明的发酵罐容器，

图 2 是本发明发酵罐容器的装有加热装置的观察孔的截面图，

图 3 显示了本发明发酵罐容器底部的截面图，

图 4 显示了配合于本发明发酵罐容器的入口的截面图，

图 5 显示了本发明的入口阀的俯视图，和

图 6 显示了包含一个以上发酵容器的本发明发酵罐系统。

在图 1 中，显示了用于生物技术加工的发酵罐容器 1，其包含外壁 2。容器 1 的下半部分还另外配备有第二壁 3，因此所述下半部分具有双层套壁。可通过中间空间 4 导入加热介质，以加热容器 1 内的肉汤。而且，在容器 1 内设置分析探头 5 以测定

相关参数，如温度和压力。

在容器 1 的上半部分，设置两个入口 6，可通过这些入口将气体或液体注入容器 1 中，所述入口连接于将在下面描述开关阀。而且，上半部分配备有观察孔 7，可以用它目测检查容器 1 内的工艺过程，而不会存在肉汤接触到外部大气的问题。

图 2 详细地显示了所述观察孔 7，它包括带有玻璃部分的透明器件 8 和隔热框架，如密封的双面抛光玻璃和 PVC-U-框架。或者，可采用除玻璃以外的其他材料，如塑料、或硼硅酸盐玻璃、石英、苏打-石灰-二氧化硅玻璃或钢化玻璃。

由于加工过程中容器 1 内部的温度升高，水汽可能在透明器件 8 上冷凝。这种冷凝物妨碍了使用者通过透明器件 8 进行观察。在此优选实施方式中，为了去除器件 8 表面上的冷凝物，设置用于加热透明器件 8 的几种加热装置。这些加热装置可交替或组合使用。

作为第一种装置，将加热灯 9 设置在容器 1 外，与所述观察孔 7 相邻，以便用加热灯辐射透明器件 8，以加热整个透明器件 8。以此方式无须改动透明器件 8，可采用普通观察孔 7。

作为另一种加热装置，优选在透明器件 8 的内表面设置表面电热丝 10，它通过电缆 11 连接于电源(未显示)。通过表面上的电热丝 10，可以用少量热能有效加热透明器件 8。

另外，将内部电热丝 12 整合到透明器件 8 中，以加热整个透明器件 8。内部电热丝 12 也可通过导线 13 连接于电源(未显示)。

由于加热装置包括加热灯 9 和电热丝 10、12，可以可靠地去除透明器件 8 内表面上的冷凝物，而不需要提供采用刮水器时必需的机械连接，这种机械连接的密封常常成为污染的原因。

在图 3 中详细描述了本发明的第二方面。搅拌元件 14 设置在发酵罐容器 1 的底部。它包括安装在搅拌器轴 16 上的搅拌臂 15。搅拌器轴 16 的下端设置有第一磁性元件 17。容器 1 的外壁 2 的底部具有凹部 18，凹部 18 具有凸出到容器 1 中的环形壁 19。所述第一磁性元件 17 形成环状，并围绕着环形壁 19，从而被布置在邻近凹部 18 的地方。第二磁性元件 20 被设置在凹部 18 内，并安装在驱动轴 21 上，驱动轴 21 连接于马达(未显示)以旋转驱动轴 21。而且，搅拌器轴 16 和驱动轴 21 被设置成沿共同的转动轴延伸。

通过磁力偶联磁性元件 17、20，从而实现驱动轴 21 和搅拌器轴 16 之间的非绝对(non-positive)连接。这使搅拌元件 14 能够在无机械连接的情况下转动，从而与

采用穿过容器壁的轴进行机械偶联的现有技术相比大大降低了发酵罐容器 1 发生污染的风险。磁力偶联能使容器 1 内部的搅拌元件 14 和容器 1 外部的驱动装置完全分离。

图 4 描述了本发明的第三个方面, 它显示了用于将气体或液体引入容器 1 或从容器 1 中抽取气体或液体的入口 6。入口 6 包括通向气体或液体供料装置(未显示)的连接管, 其中所述连接管包括沿第一轴线 23 延伸并与容器 1 一端连接的第一部分 22。所述第一部分 22 连接于沿第二轴线 25 延伸的第二部分 24。所述第二轴线 25 与所述第一轴线 23 基本垂直。最后, 入口 6 包括连接于所述第二部分 24 并沿第三轴线 27 延伸的第三部分 26, 其中所述第三轴线 27 与所述第一轴线 23 基本平行并间隔一定距离。根据优选实施方式, 所述第三部分再连接回容器 1, 这意味着部分 22、24、26 形成环路。或者, 所述第三部分可连接至供料装置, 如培养基储存罐等。而且, 所述第二部分 24 包括连接件, 该连接件包括入口阀 28。连接于培养基供应源(未显示)的供料管 29 连接于入口阀 28。

当由于灭菌过程中材料温度的升高而使部分 22、24、26 膨胀时, 部分 22、24、26 形成的环路可以沿箭头 30 的方向弯曲。这种膨胀能力降低了管道中的张力, 从而降低了形成裂缝的风险。而且, 三部分 22、24、26 所形成的环路允许清扫容器 1 和入口阀 28 之间入口 6 的管道。蒸汽可进入第一部分 22, 并可通过第二和第三部分 24, 26, 流回容器 1 中。因此, 容器 1 和入口阀 28 之间的管道不存在死角。

图 5 详细显示了用于本发明发酵罐系统的开关阀 31。利用开关阀 31 将例如清洁液体或蒸汽分配到发酵罐容器内的不同位置。开关阀 31 是多路阀, 包括配备有四个出口螺栓 33 和四个孔 34 的阀体 32, 其中孔 34 与出口螺栓 33 连通。而且, 在此优选实施方式中, 阀体 32 整体成形, 以避免焊接接缝。通管 35 从第一端 36 至第二端 37 通过阀体 32, 孔 34 与通管 35 交叉。如果通管 35 壁的一部分如此处的情况那样与孔 34 交叉, 在本发明意义上的交叉已经存在。所述第一端 36 和所述第二端 37 与清洁液体的供应源(未显示)相连通。籍此形成环路, 可清扫通管 35。

阀件 38 插入孔 34, 并且可以在关闭位置和开通位置之间切换, 在开通位置中通管 35 与出口螺栓 33 相连通。

通管 35 和孔 34 之间的直接连接取消了在灭菌过程中无法通过导入通管 35 使足量清洁液体流到达的管道部分。通管 35 至孔 34 的开口直接由阀件 38 封闭, 并且没有留下清洁液体通过管道时无法清扫的任何空间。

图 6 中显示了一种发酵罐系统, 在此优选实施方式中其包括四个发酵罐容器 1a、

1b、1c 和 1d。另外，提供了连接容器 1a、1b、1c 和 1d 的传输管 39。容器 1a、1b、1c 和 1d 的底部具有端口，传输管 39 连接于这些端口。传输阀 40a、40b 和 40c 设置在传输管 39 中，并位于容器 1a、1b、1c 和 1d 之间，以关闭不同容器 1a、1b、1c 和 1d 之间的连接。

在这种优选实施方式中，所述第二容器 1a 比所述第一容器 1b 的容积大，且第一容器 1a 至第四容器 1d 的容器容积逐渐增大。另外，容器 1a、1b、1c 和 1d 设有压力入口 41a、41b、41c 和 41d。通过压力入口 41a、41b、41c 和 41d，可将介质，优选压缩空气引入容器 1a、1b、1c 和 1d 之一中，从而提高此容器中的压力。

采用传输管 39 时，有可能在通过压力入口 41a 引入所优选的压缩空气以提高第一容器 1a 中的压力时，将肉汤从第一容器 1a 转移到第二容器 1b 中。在这种情况下，如果传输阀 40a 打开且传输阀 40b 关闭，第一容器 1a 中升高的压力迫使肉汤通过传输管 39 移动至第二容器 1b 中。以相同的方式，通过关闭转移阀 40a 和 40c 并通过压力入口 41b 将压缩空气引入第二容器，可将肉汤从第二容器 1b 转移到第三容器 1c。因此，由于有了传输管 39，就可省去泵，消除泵的泡沫产生效应。尤其是，由于可通过控制压力的增加使传输管 39 中仅有少量流体，因此有可能实现培养肉汤和细胞的“平滑”转移。

本发明的发酵罐容器 1 和系统可用于培养细胞，具体是培养用于增殖病毒的细胞，以生产疫苗，更具体是亚基或裂解疫苗。

更具体说，所述病毒是呼吸道病毒，或流感病毒(大流行毒株或每年周期性毒株)，或脊髓灰质炎病毒，或与性传播疾病有关的病毒如人体免疫缺陷病毒(HIV)、人乳头瘤病毒(HPV)、单纯疱疹病毒(HSV)或丙型肝炎病毒(HCV)。更具体说，所述细胞是动物细胞，如 MDCK 细胞、Vero 细胞、per.C.6 细胞、鸡胚成纤维细胞(CEF)或 CHO 细胞。

因此，本发明也涉及细胞增殖方法，其中在所附权利要求所述的发酵罐容器或发酵罐系统中培养细胞。适用于增殖的条件取决于所用细胞，是本领域技术人员众所周知的。在本发明中，所述细胞可以是动物细胞。优选地，所述细胞可以是 MDCK 细胞、Vero 细胞、per.C.6 细胞、鸡胚成纤维细胞(CEF)或 CHO 细胞。

按照另一方面，本发明提供了制备病毒疫苗的方法，所述方法包括在所附权利要求书所述的发酵罐容器或发酵罐系统中增殖细胞的步骤。优选地，该方法还包括以下步骤：用病毒感染细胞，然后在允许病毒增殖的条件下培养该细胞。最后，按照已知方法回收培养肉汤中的病毒，加工成可用作配制疫苗的基料的物质。疫苗可

以是亚基或裂解疫苗。按照本发明，所述细胞可以是动物细胞，优选 MDCK 细胞、Vero 细胞、per.C.6 细胞、鸡胚成纤维细胞(CEF)或 CHO 细胞。更具体说，所述病毒是呼吸道病毒，或流感病毒(大流行毒株或每年周期性毒株)，或脊髓灰质炎病毒，或与性传播疾病有关的病毒如人体免疫缺陷病毒(HIV)、人乳头瘤病毒(HPV)、单纯疱疹病毒(HSV)或丙型肝炎病毒(HCV)。

此方法还可包括以下步骤：从细胞培养物中分离病毒或病毒的一种或几种组分。在另一实施方式中，所述方法还包括用获自细胞培养物的病毒组分或病毒配制疫苗。配制过程可包括将病毒组分或病毒与药学上可接受的载体、佐剂和/或赋形剂混合。另外，根据疫苗接种的特性，可能必须在配制疫苗前灭活病毒。本领域已知许多病毒灭活方法，均可用于该目的。

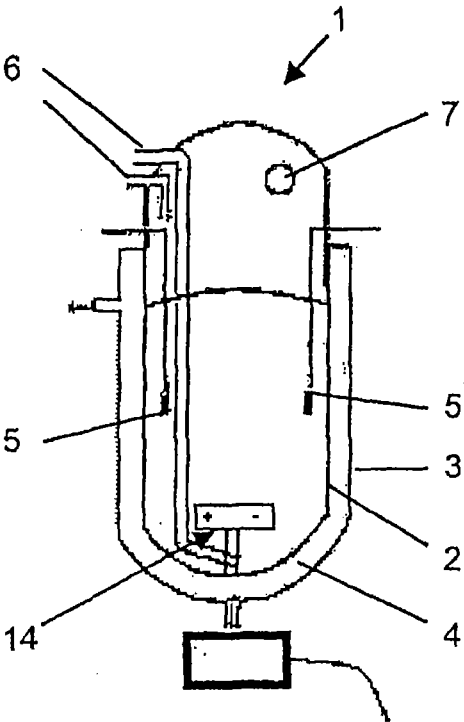


图 1

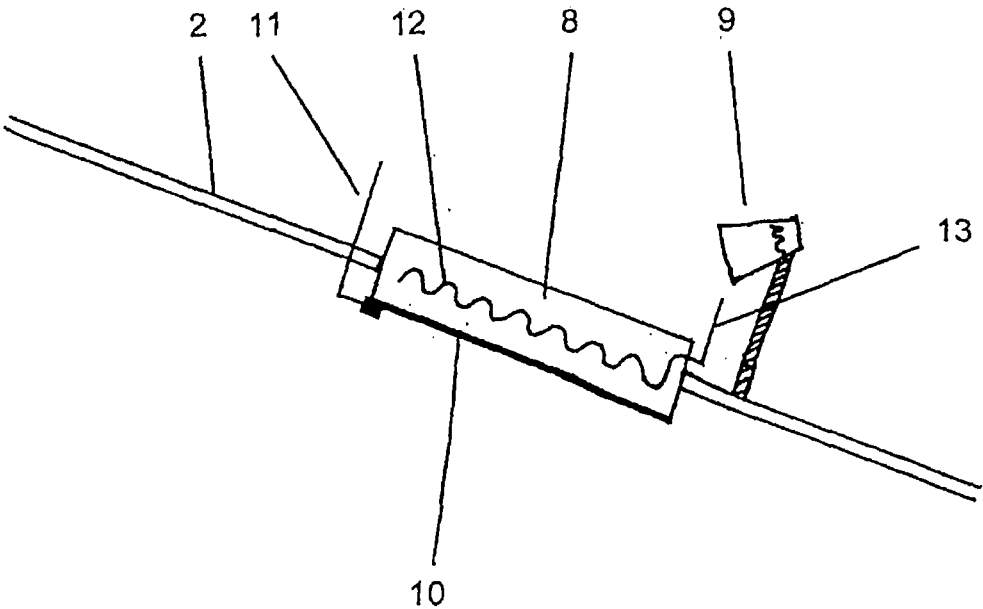


图 2

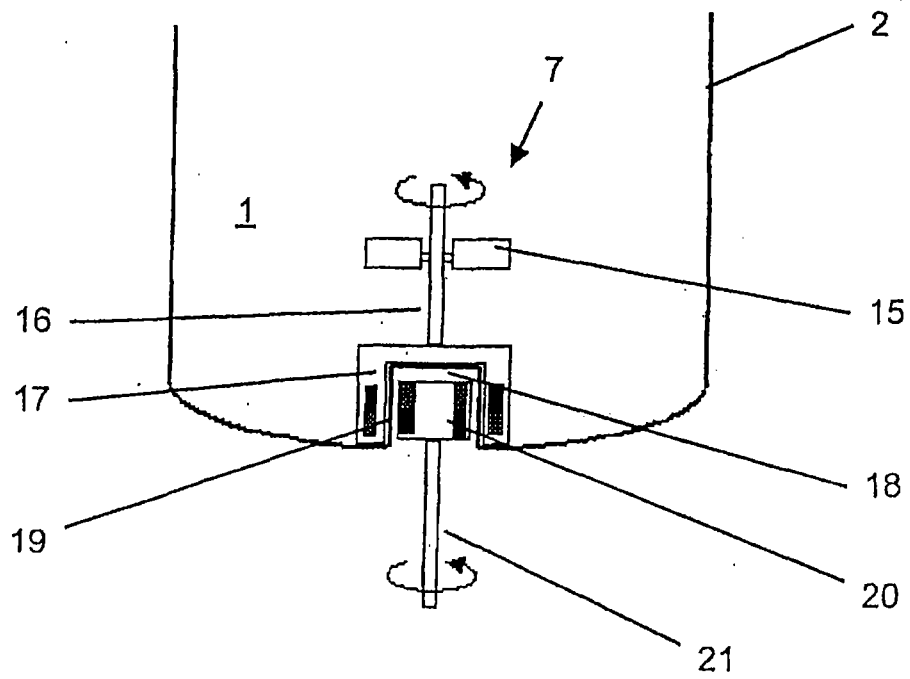


图 3

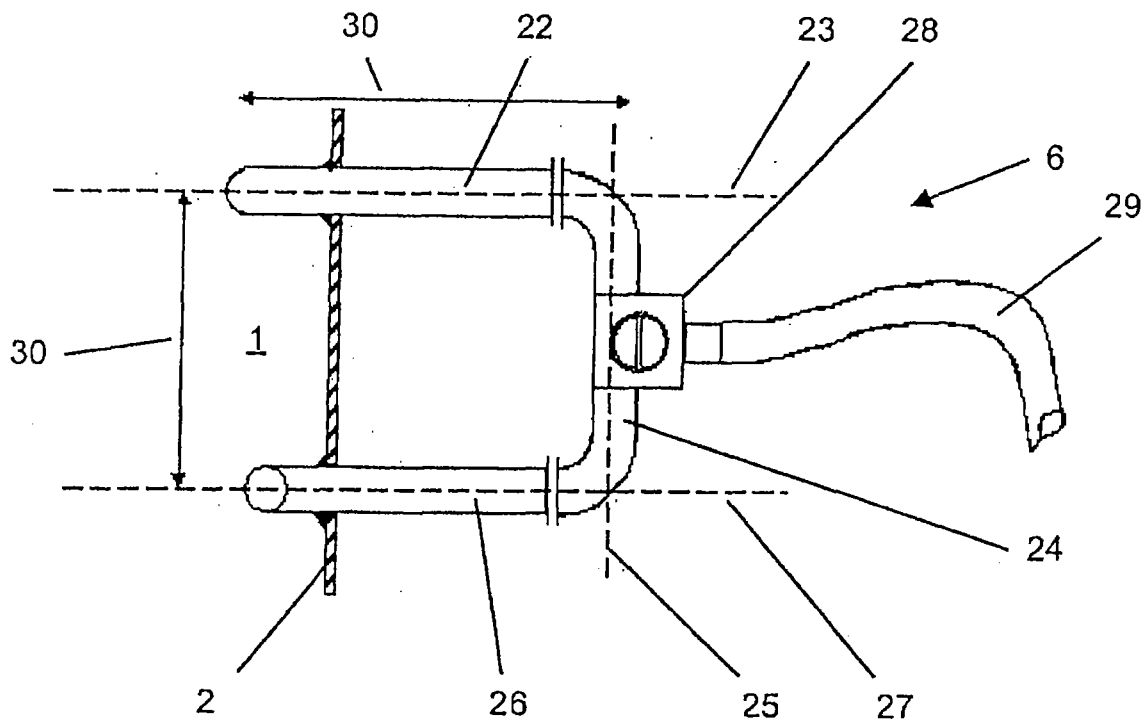


图 4

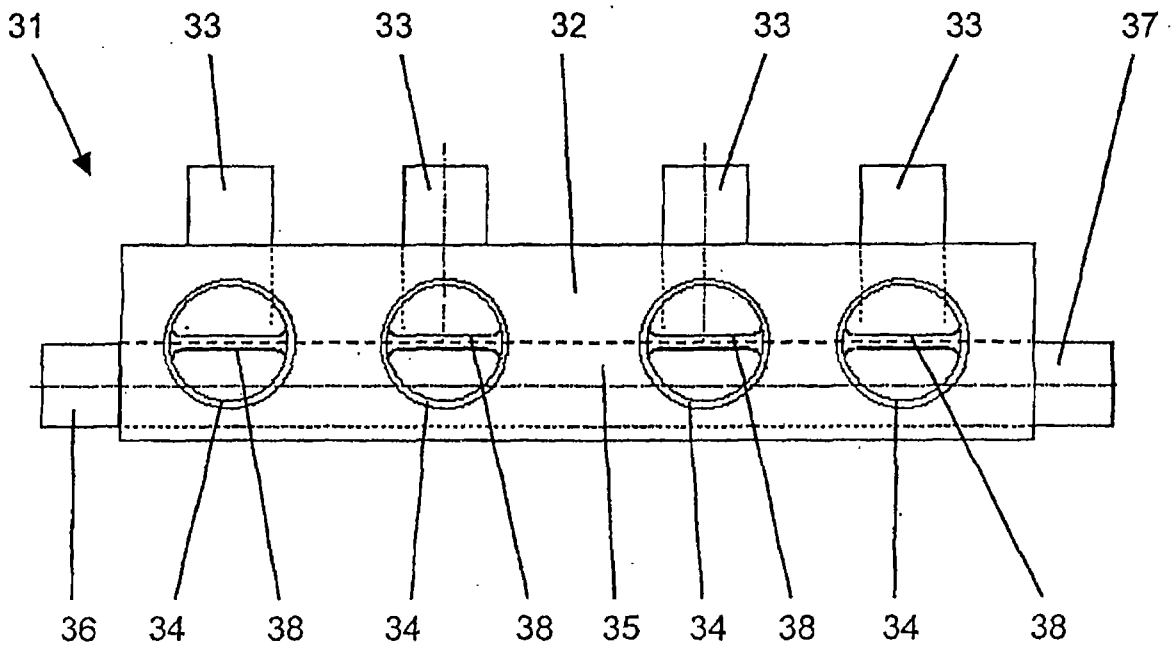


图 5

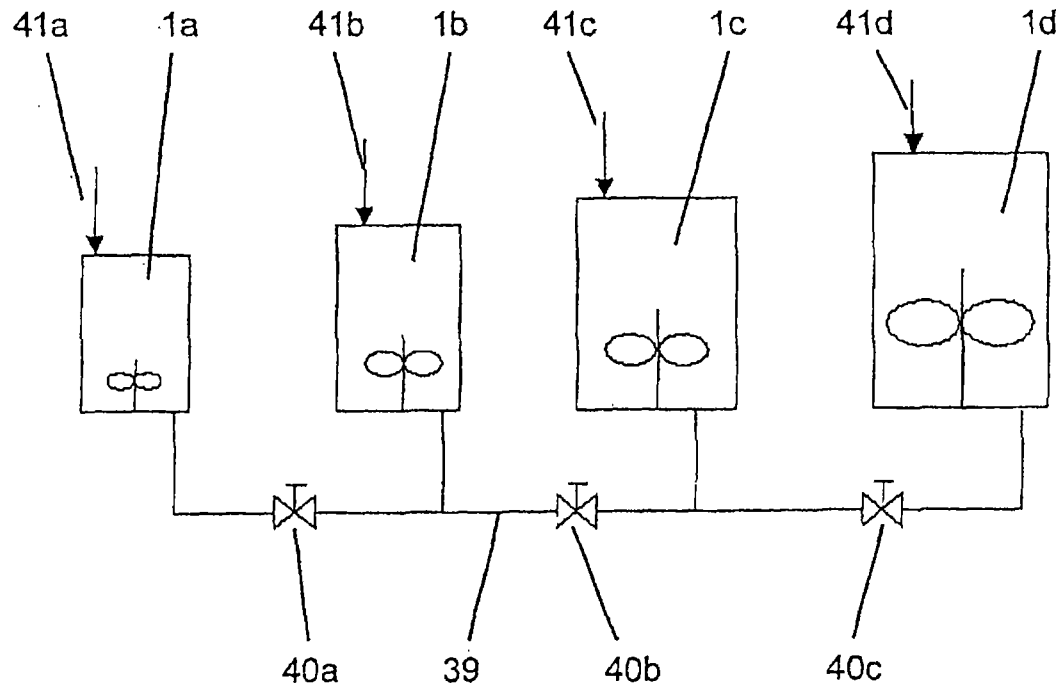


图 6