[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C12M 1/00 (2006.01)
C12M 3/00 (2006.01)

[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510043201.0

[45] 授权公告日 2008 年 1 月 9 日

[11] 授权公告号 CN 100360657C

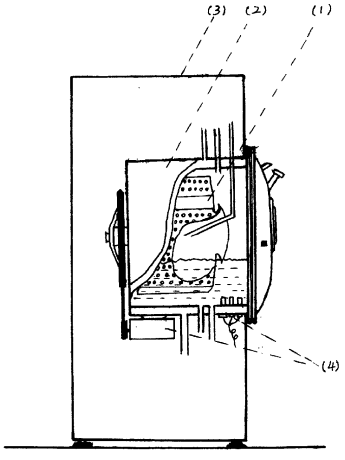
[22] 申请日 2005.3.30
[21] 申请号 200510043201.0
[73] 专利权人 韩毅鹏
地址 250021 山东省济南市经七路 588 号
[72] 发明人 韩毅鹏
审查员 赵世华
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 2 页

[54] 发明名称

水平转筒式生物反应器

[57] 摘要

本发明涉及一种用于进行动物和植物细胞培养或微生物发酵的生物反应器。本发明主要由周壁有微孔的可旋转内筒和带有恒温夹套的外筒以及有关组件和附件组成。本发明采用水平双层转筒式密封结构，旋转的内筒作为容纳细胞和微载体的培养罐，固定的外筒为细胞提供物质生存环境。补加物料、调节 pH 和更换培养液先在外筒或调节罐中进行，然后再交换到内筒供细胞使用。培养的细胞不能通过内筒壁的微孔，而细胞生产的蛋白质或病毒能够通过微孔进入外筒被在线收集。本发明适用于贴壁细胞的分批式、半连续式或连续微载体培养，也可以用于微生物或悬浮系细胞的悬浮培养。



1、 一种用于进行动物和植物细胞培养或微生物发酵的水平转筒式生物反应器，采用双层转筒式密封结构，其特征是：该装置是由周壁有微孔的可滚动旋转内筒(1)、固定的有夹层外筒(2)以及箱体支架(3)和附件(4)组成，内筒(1)的筒圈内壁有凸筋、外壁有提水槽，周壁有直径 0.1-9000 微米的微孔，前盖中部有圆形接物孔，内筒作为容纳细胞和微载体的培养罐，外筒为细胞提供物质生存环境，需补加物料、调节 pH 和更换培养液时先在外筒或调节罐中进行后再交换回内筒，培养的细胞不能通过微孔逸出，而细胞生产的蛋白质或病毒能够通过微孔进入外筒被在线收获。

2、 根据权利要求 1 所描述的生物反应器，其特征在于反应器外筒(2)的前盖上设置有观察视窗、采样孔，以及安装内筒传感器的活动支架。

水平转筒式生物反应器

技术领域

本发明涉及一种用于进行动物和植物细胞培养或微生物发酵的生物反应器。

背景技术：

在工程学上习惯于把用于培养细菌、酵母等微生物的容器称为"发酵罐"（fermentor），而把培养动植物细胞的容器称为“生物反应器”（bioreactor）。由于本发明的目的主要是用于动物细胞的高密度体外培养，同时可能兼用于植物细胞或细菌的培养，因此本文件中统称为“生物反应器”。

随着生物技术产业的不断发展，迫切需要解决用于微生物和动、植物细胞大规模培养的生物反应器。以往曾采用化学工业生产设备改良的机械搅拌式反应器（也称反应罐）。由于这类机械搅拌式反应罐在搅拌混合物料过程中的剪切力较大，当用于动物细胞培养时，因动物细胞没有细胞壁的保护、不能耐受剧烈的搅拌和通气等原因，易损坏被培养的细胞。搅拌器高速旋转时所形成的气泡也会对敏感细胞产生损伤作用。为降低搅拌器桨叶对细胞的剪切力和提升反应器的传质能力，对于反应器的传统机械搅拌方式和传气、传热、传质方法也进行许多改进。已经设计出：浆式、棒式、船舶推进浆、斜桨叶或船帆形机械搅拌器及往复振动锥孔筛板搅拌反应器、笼式通气搅拌反应器、双层笼式通气搅拌反应器等。其中主要针对动物细胞培养发明的反应器有：转瓶反应器、流化床反应器、中空纤维反应器、膜式反应器、空气提升式反应器等。

由于细胞生存条件的多样型，这些设备仍然没有从根本上解决动、植物细胞大规模培养存在的搅拌剪切力大、物料传递不均匀、设备内部积料和死角的

问题，以及进行高密度、大规模培养所面临的连续生产和在线收集产品等问题。

发明内容：

为克服现有的设备用于动、植物细胞高密度培养存在的搅拌剪切力损伤细胞、物料传递不均匀、设备内部积料和死角的问题，以及进行大规模培养所面临的在线收集产品等问题。本发明提供一种搅拌性能独特、机械搅拌剪切力小、物料传质过程对细胞生长干扰少、能进行高密度的分步或连续流细胞培养、并可以在线收集产品的生物反应器。本发明既可以用于细胞的悬浮培养、也可以用于贴壁细胞的微载体培养。

技术方案：采用水平滚动双层转筒式密封结构，可滚动旋转的内筒作为容纳细胞和微载体的培养罐，固定的外筒为细胞生存提供必要的物质环境。需要补加物料、调节 pH 或更换培养液时，可以在外筒中或在调节罐中进行。内外筒之间有微孔网分隔，被培养的细胞不能通过微孔，而细胞生产的蛋白质或病毒能够通过微孔网被在线收获。

技术特点：

1、本生物反应器由于采用了双层水平滚动转筒式结构，当用它进行细胞培养时，活细胞或接种细胞的微载体是生长在内筒中，外筒中的培养基只是为细胞提供生长代谢的间接环境保障。内筒中的细胞通过内筒壁上的微孔（或筛网）与外筒内的培养基进行养份和代谢物的交换。当需要向培养基中补加物料、氧气或调节酸碱度时，既可以在外筒内直接进行，也可以将培养液从外筒引出到另外的调节罐内循环进行。减低了操作因素对培养体系的影响。

2、本反应器用于基因工程菌或动物细胞的微载体悬浮培养时，细菌发酵产生的大分子蛋白质或细胞培养的病毒能够通过内筒微孔滤网不断的转移到外筒的培养液中。在不影响筒内细菌或细胞继续生长的情况下，能通过收集外筒培养液

将产物及时的收集起来，实现半连续批式培养或连续培养。

3、本反应器采用水平转筒式搅拌传质方式，可以消除积料或死角，实现物料与微载体的高效混合。同时也减低了叶片式搅拌器的剪切力对细胞的伤害作用。

4、本反应器的气体混合供给不是直接在细胞培养系统中进行的，这有利于避免气泡的表面张力对细胞的伤害作用。

5、在培养结束时需要收集筒内的细菌或细胞，可以在放空培养基后，直接提高内筒转速，甩滤回收细胞。还可以利用内筒的甩滤作用，在筒内对细胞进行反复洗涤处理。

6、本反应器还具有制作简单，能够在线消毒，容易进行规模放大等特点。

下面结合附图对本发明的实施步骤作进一步说明：

附图说明：

附图 1 为本发明的结构示意图

附图 2 为本发明的内筒结构图

附图 3 为本发明的外筒结构图

实施步骤：

在附图 1 中，本生物反应器主要由可旋转的内筒(1)和带有恒温夹套的外筒(2)以及箱体支架(3)和附件(4)组成。

在附图 2 所示实施例中，内筒(1)是由内筒圆筒(1-1)与内筒后盖(1-2)、内筒前盖(1-3)、内筒三角架组件（1-4）铆接（或焊接）组成（附图二）。内筒圆筒(1-1)周壁上布满微小的孔，孔的直径 0.1-9000 微米，孔与孔之间的距离为 50-9000 微米。内筒(1)主体选用 0.5——8 毫米厚不锈钢板冲压、弯卷、焊接、抛光制成，其有微孔的局部位置也可选用 50——800 目的烧结不锈钢筛网制作。

在内筒（1）的内壁沿轴线向有轻微突起的三到六条凸筋（1-1-1），呈几何

对称分置，用以增加内筒转动时培养物的翻滚效果。在内筒圆筒（1-1）的外壁上，沿轴线向有向内筒旋转方向翘起的三到六条提水槽（1-1-2），呈几何对称分置。使用时，内筒缓慢转动，当提水槽转离液面时，会将外筒中的部分培养液带离液面，再通过内筒壁上的微孔进入内筒，以增加内、外筒的液体交换。内筒的径宽比为0.1——20。内筒前盖的中央部位有一适当大小的圆形接物孔，用于观察筒内情况或从筒内取样。

内筒三角架组件（1-4）是由内筒三角架（1-4-1）、主轴（1-4-2）、组成。内筒三角架组件与内筒后盖（1-2）铆接（或焊接）在一起，支撑内筒（1）。

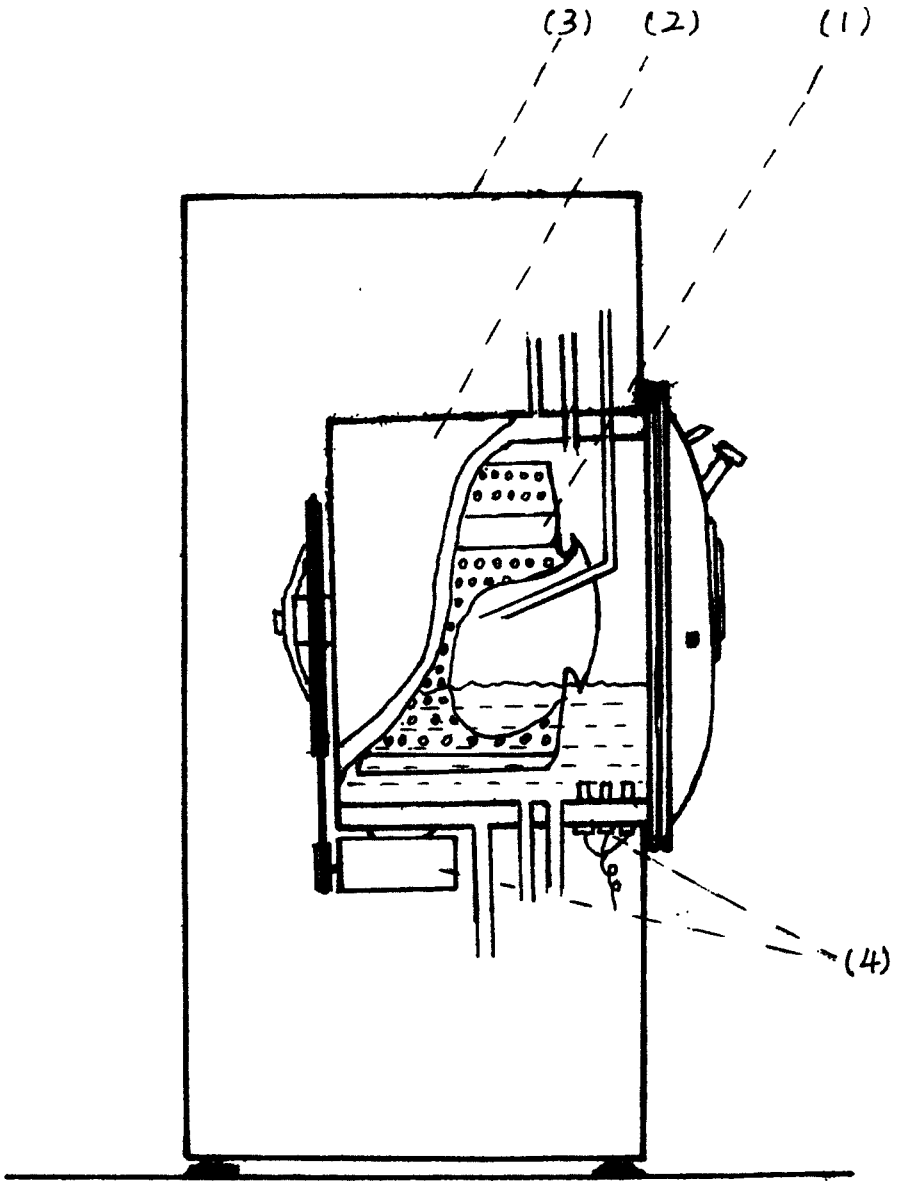
在图3所示实施例中，外筒（2）是由1——10毫米厚不锈钢制作的外筒圈（2-1）、外筒前盖（2-2）、外筒后盖（2-3）、外筒圈前部密封法兰（2-4）、外筒三角架组件（2-5）等组成（附图三）。外筒圈（2-1）是由外筒内圈和外筒外圈共同组成的同心夹套。将外筒的内圈和外圈以同轴心方式两端分别焊接在外筒后盖（2-3）和外筒前部密封法兰（2-4）上，就构成外筒主体。在外筒外圈上设有夹层循环水进、出口。向该夹层中通入流动介质，可以对筒内环境起到调节温度作用。外筒（2）是用来为反应器培养室（内筒）提供恒温环境和盛放培养液，同时对主电机、加热器、温度控制器、传感器及筒内外物质交换通道等起支撑作用。

在外筒后盖（2-3）的中心部位有一个圆孔，内筒主轴（1-4-2）从外筒后盖（2-3）的中心圆孔穿过,将外筒及内筒转轴联接起来，使内外筒成为一体。主轴上安装有联接主电机的皮带轮或齿轮，通过可调速的主电机驱动内筒转动。

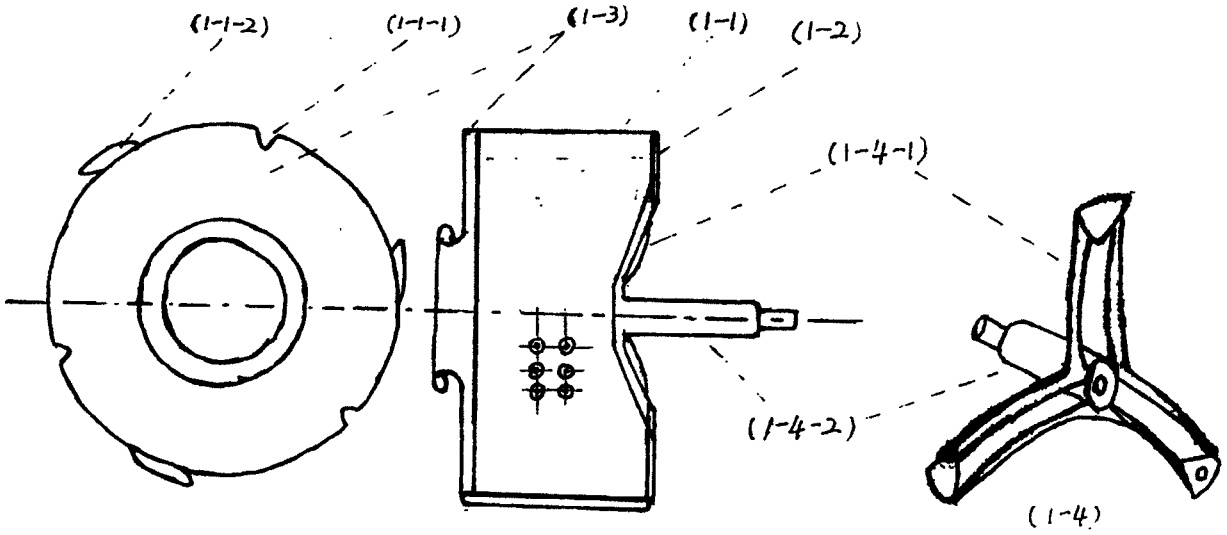
在外筒圈靠近外筒前盖的位置，上下都设有数个贯通外筒圈（2-1）的通道（2-6），用于安装消毒蒸汽进、出口阀，物料进、出口阀，控温加热器，外筒传感器等附件。

外筒前盖（2-2）是通过法蓝与外筒圈前部法蓝（2-4）接合，在外筒前盖上安装有安全释放阀（2-2-1），耐压玻璃观察视窗（2-2-2）、采样孔（2-2-3）、内筒传感器支架（2-2-4）。当外筒前盖（2-2）通过法蓝与外筒密封接合后，就可用于细胞培养。如果关闭有关的物料进、出口阀和采样孔，开启内加热器或向反应器中通入水蒸气，可以进行反应器的在线消毒。

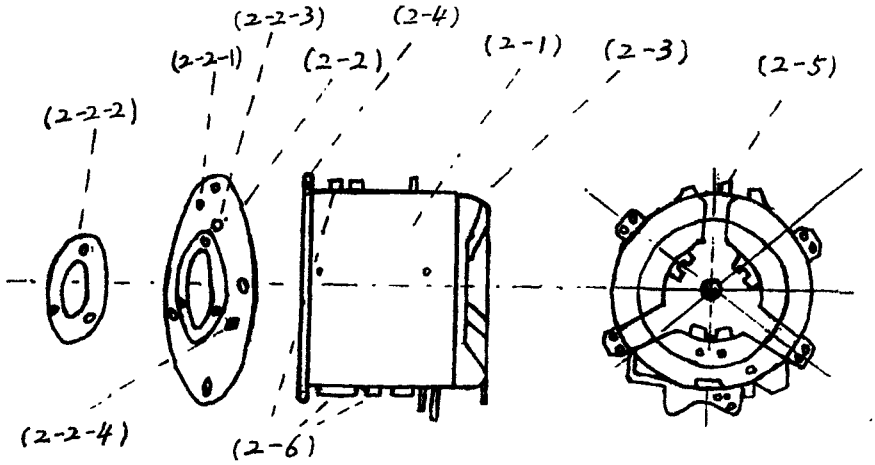
在使用本生物反应器进行细胞培养时，将适量预处理好的微载体放置在反应器的内筒中，在内外筒中都加入培养液。培养液的加量以在内筒转动时，内筒中的液体不能溅出到外筒为好。培养时内筒缓慢转动，筒内的微载体或细胞随内筒的转动不断翻动。内筒中的培养液通过内筒壁上的微孔，与外筒中的培养液进行交换。由于微孔的孔径小，细胞或微载体不能通过微孔进入外筒。通过外置恒温器调节外筒夹层中循环水的温度来保证反应器的温度恒定。当外筒中的培养液需要补充养分或调节酸碱度时，将培养液从外筒引入到调节罐中进行调整和补加，然后通过蠕动泵再泵回反应器中循环使用。如果需要进行连续流加式培养，可以将新加入的培养液直接加入内筒，控制外筒的排放量，使流入、流出的液体达到平衡。选择合适大小微孔的内筒，能够在内筒进行微载体培养细胞，而从外筒液中连续的收集单克隆抗体或收获病毒等产物。



附图 1



附图2



附图3