

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C12M 1/12 (2006.01)



[12] 实用新型专利说明书

专利号 ZL 200720037535.1

[45] 授权公告日 2008 年 4 月 16 日

[11] 授权公告号 CN 201046965Y

[22] 申请日 2007.5.14

[21] 申请号 200720037535.1

[73] 专利权人 高大勇

地址 230061 安徽省合肥市安庆路 282 号 32
-503 信箱

[72] 发明人 高大勇

[74] 专利代理机构 合肥金安专利事务所
代理人 金惠贞

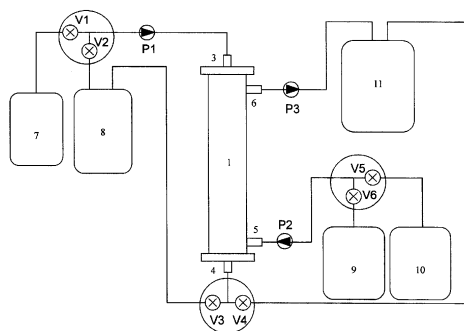
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 2 页

[54] 实用新型名称

添加和去除细胞悬浮液中低温保护剂的通用
细胞处理机

[57] 摘要

本实用新型涉及添加和去除细胞悬浮液中低温保护剂的通用细胞处理机。解决了现有设备操作中耗时长，效率低下的问题。结构特点是：等渗盐水容器 7 和细胞悬浮液容器 8 通过三通管及输液管连通着透析器的细胞悬浮液进口端，等渗盐水容器 9 和高渗盐水或亚高渗保护剂溶液容器 10 通过三通管及输液管连通着透析器 1 的透析液进口 5 端，废液容器 11 通过输液管连通着透析器 1 的透析液出口，透析器 1 的细胞悬浮液出口通过三通管分别连通着废液容器 11 和细胞悬浮液容器 8。其中设置高渗盐水或亚高渗低温保护剂容器，目的是在初始时减缓细胞悬浮液的渗透压剧烈变化。该机具有操作步骤简单，清除时间短的优点。



1、添加和去除细胞悬浮液中低温保护剂的通用细胞处理机，包括透析器（1），透析器（1）为圆柱筒形，透析器（1）内沿轴向均布装有多孔中空纤维半透膜管（2），一端有细胞悬浮液进口（3），另一端有细胞悬浮液出口（4），两端侧面分别设有透析液进口（5）和透析液出口（6），其特征在于：

等渗盐水容器（7）和细胞悬浮液容器（8）通过三通管及输液管连通着透析器（1）的细胞悬浮液进口（3）端，等渗盐水容器（7）和细胞悬浮液容器（8）的出液口分别安装有电磁阀（V1）和电磁阀（V2），其输液管上安装有蠕动泵（P1）；等渗盐水容器（9）和高渗盐水或亚高渗保护剂溶液容器（10）通过三通管及输液管连通着透析器（1）的透析液进口（5）端，等渗盐水容器（9）和高渗盐水或亚高渗保护剂溶液容器（10）的出液口分别安装有电磁阀（V5）和电磁阀（V6），其输液管上安装有蠕动泵（P2）；废液容器（11）通过输液管连通着透析器（1）的透析液出口（6），其输液管上安装有蠕动泵（P3）；透析器（1）的细胞悬浮液出口（4）通过三通管分别连通着电磁阀（V3）和电磁阀（V4），电磁阀（V4）的出口通过输液管连通着废液容器（11），电磁阀（V3）的出口通过输液管连通着细胞悬浮液容器 8。

2、根据权利要求 1 所述的添加和去除细胞悬浮液中低温保护剂的通用细胞处理机，其特征在于：所述电磁阀（V1）、电磁阀（V2）、电磁阀（V3）、电磁阀（V4）、电磁阀（V5）和电磁阀（V6）分别为夹管阀。

3、根据权利要求 1 所述的添加和去除细胞悬浮液中低温保护剂的通用细胞处理机，其特征在于：所述输液管均为一次性输液管。

4、根据权利要求 1 所述的添加和去除细胞悬浮液中低温保护剂的通用细胞处理机，其特征在于：所述蠕动泵转速可调，其流速范围为 0—900ml/min，有外控接口。

添加和去除细胞悬浮液中低温保护剂的通用细胞处理机

技术领域

本实用新型涉及一种医疗仪器，它是利用灌注法添加需要低温保存的细胞悬浮液中低温保护剂，或清除低温保存后的细胞悬浮液中存在的低温保护剂的通用细胞处理机。同时这种通用细胞处理机也可以在生物反应器中用来浓缩细胞悬浮液。

背景技术

在细胞的低温保存过程中，为了减少低温损伤，经常需要在被保存的细胞悬浮液中加入特定种类和特定浓度的低温保护剂。例如，人类造血祖细胞常用的低温保护剂是二甲基亚砜（DMSO），而人类红细胞常用的是甘油。在治疗过程中，如果不被预先清除细胞悬浮液中加入的低温保护剂DMSO、甘油等，而直接输入人体，将会造成细胞的渗透压损伤，从而导致移植失败。另外，这些低温保护剂在室温下对人体有毒副作用。因此，复温后从细胞悬浮液中去除低温保护剂十分必要。

目前常用的添加和去除低温保护剂的方法为人工法或离心法（分步稀释加离心）。在离心法中，由于高速旋转而产生的机械力和渗透压变化常会导致细胞聚集成团、机械损伤和渗透压损伤；此外，由于人工法和离心法离心分离过程在开放的环境中进行，这种操作上的非封闭性也会导致生命材料受到细菌的污染。此外，人工法或离心法耗时长，效率低下，通常需要3-4小时。

发明内容

本实用新型的目的在于：为了克服现有的添加和洗涤保护剂方法在致使细胞损伤、可能导致细胞污染以及效率低下等方面的不足，提供一种添加细胞悬浮液中低温保护剂或去除冷冻复温后细胞悬浮液中低温保护剂的通用细胞处理机。

由于添加和清除保护剂的过程互为逆反过程，因此结构完全一样。在下面的技术方案中，仅以清除保护剂的过程作说明。

具体的结构设计方案如下：

添加和去除用于低温保存的细胞悬浮液中低温保护剂的通用细胞处理机采用逆流

灌注添加或清除,包括蠕动泵,电磁阀,控制电路,支架,一次性管路以及与管路相连接的装细胞悬浮液的容器,透析器,高渗盐水或亚高渗低温保护液容器,生理盐水容器,废液容器。其特点是:包括细胞悬浮液回路和透析液回路两个回路,利用透析的方法添加或去除低温保护剂,同时在细胞悬浮液进口及透析液进出口处分别设置蠕动泵,实现超滤控制。

添加和去除细胞悬浮液中低温保护剂的通用细胞处理机包括透析器1,透析器1为圆柱筒形,透析器1内沿轴向均布装有多孔中空纤维半透膜管2,一端有细胞悬浮液进口3,另一端有细胞悬浮液出口4,两端侧面分别设有透析液进口5和透析液出口6。等渗盐水容器7和细胞悬浮液容器8通过三通管及输液管连通着透析器1的细胞悬浮液进口3端,等渗盐水容器7和细胞悬浮液容器8的出液口分别安装有电磁阀V1和电磁阀V2,其输液管上安装有蠕动泵P1;等渗盐水容器9和高渗盐水或亚高渗保护剂溶液容器10通过三通管及输液管连通着透析器1的透析液进口5端,等渗盐水容器9和高渗盐水或亚高渗保护剂溶液容器10的出液口分别安装有电磁阀V5和电磁阀V6,其输液管上安装有蠕动泵P2;废液容器11通过输液管连通着透析器1的透析液出口6,其输液管上安装有蠕动泵P3;透析器1的细胞悬浮液出口4通过三通管分别连通着电磁阀V3和电磁阀V4,电磁阀V4的出口通过输液管连通着废液容器11,电磁阀V3的出口通过输液管连通着细胞悬浮液容器8。

所述电磁阀V1、电磁阀V2、电磁阀V3、电磁阀V4、电磁阀V5、电磁阀V6分别为夹管阀。

所述输液管均为一次性输液管。

所述蠕动泵转速可调,其流速范围为0—900ml/min,有外控接口。

用滞留小样品的方法来清洗样品中的低温保护剂。

所述添加和去除细胞悬浮液中低温保护剂的通用细胞处理机也可以用来在生物反应器中浓缩细胞悬浮液(单位体积的细胞浓度,细胞数,最终体积)。

该技术方案所依据的科学原理是:(1)血液透析的原理:含有低温保护剂的复温后的细胞悬浮液沿一个方向流经透析器内沿轴向均匀分布的多孔中空纤维半透膜管,同时,不含低温保护剂的透析液沿第二个方向(与第一个方向相反,逆流)流经多孔中空纤维半透膜管外的区域。这样在多孔中空纤维半透膜管的内表面和外表面会产生低温保护剂的浓度梯度,多孔中空纤维半透膜管内的低温保护剂会在此浓度梯度的驱动下扩散

到纤维管外，扩散到管外的低温保护剂同时会不断被流动的透析液带走，达到清除保护剂的目的。扩散的阻力取决于溶质分子量的大小，分子量越大，其扩散阻力也越大；所以，透析仅对甘油、DMSO 等小分子溶质的清除效果较好。(2) 血液滤过、超滤原理：血液过滤清除溶质的原理与血液透析扩散的原理不同，它利用通透性很高的透析膜，通过由透析膜两侧的压力差（可以通过增大血液侧压力，或者减少透析液侧压力来实现）产生的大量液体运动，将水分子及可穿透物质，从血液中通过透析膜形成滤液排除，这些滤液包括水，离子，小分子和中大分子溶质，特别是在清洗冷冻后的红细胞悬浮液中的低温保护剂（例如甘油）时，由于发生溶血，红细胞内的血红蛋白释放出来，成为游离血红蛋白，如果使用的透析器只是普通的中空纤维透析器，中空纤维膜的孔径只允许甘油等小分子通过，由于血红蛋白的分子量较大，不能透过中空纤维膜，从而导致最终清除甘油后的细胞悬液中游离血红蛋白的浓度高于 1g/L 的国家标准。在本专利中，通过应用既有透析功能又有过滤功能的透析器的超滤来解决这一问题。通过超滤使得细胞悬液的体积大大减少，最后再通过重悬生理盐水来达到要求的红细胞压积。

该通用细胞处理机中设置高渗盐水或亚高渗低温保护剂容器，其目的是在初始时减缓细胞悬浮液的渗透压剧烈变化。

当用来清洗的细胞溶液体积较小，例如清洗脐血干细胞等时体积可能小于 20ml，这一体积远小于将透析器血液侧及血液管路装填满所需要的溶液体积。在此声明一种新颖的方法来解决这一问题：将含有保护剂的细胞悬浮液用注射器或蠕动泵吸到透析器的中空纤维膜内，并保持不动；透析液按照某一流速流经中空纤维膜外的区域，达到清除小样品细胞溶液中的低温保护剂的目的。

电磁阀为一种夹管阀，管路穿过阀体，通过电磁阀的收缩控制管路中软管是畅通的还是挤压在一起，从而达到开关的目的，同时阀本身不与管路中的介质（细胞悬浮液等生命材料）直接接触。

本实用新型的有益效果是，可以在去除低温保护剂的同时，减少细菌污染的机会，减少渗透压的损伤，避免离心过程中机械外力的损伤，实现超滤的效果；同时本通用细胞处理机具有体积小，结构简单，操作步骤简单，清除时间短的优点。

附图说明

图 1 为本实用新型结构示意图。

图 2 为透析器横截面结构图。

图3为处理少量细胞时的装置示意图。

具体实施方式

下面结合附图，通过实施例对本实用新型作进一步地说明。

实施例1：

去除冷冻复温后细胞悬浮液中低温保护剂的通用细胞处理机包括透析器1，透析器1为圆柱筒形，透析器1内沿轴向均布装有多孔中空纤维半透膜管2，一端有细胞悬浮液进口3，另一端有细胞悬浮液出口4，两端侧面分别设有透析液进口5和透析液出口6；

等渗盐水容器7和细胞悬浮液容器8通过三通管及输液管连通着透析器1的细胞悬浮液进口3端，等渗盐水容器7和细胞悬浮液容器8的出液口分别安装有电磁阀V1和电磁阀V2，其输液管上安装有蠕动泵P1；

等渗盐水容器9和高渗盐水或亚高渗保护剂溶液容器10通过三通管及输液管连通着透析器1的透析液进口5端，等渗盐水容器9和高渗盐水或亚高渗保护剂溶液容器10的出液口分别安装有电磁阀V5和电磁阀V6，其输液管上安装有蠕动泵P2；废液容器11通过输液管连通着透析器1的透析液出口6，其输液管上安装有蠕动泵P3；

透析器1的细胞悬浮液出口4通过三通管分别连通着电磁阀V3和电磁阀V4，电磁阀V4的出口通过输液管连通着废液容器11，电磁阀V3的出口通过输液管连通着细胞悬浮液容器8，见图1和图2。

电磁阀V1和电磁阀V2的作用是选择哪种溶液（等渗盐溶液还是细胞悬浮液）流入透析液的血液侧进口；电磁阀V3和电磁阀V4的作用是确定从透析器血液侧出口流出来的溶液是流回细胞悬浮液容器还是废液容器；电磁阀V5和电磁阀V6的作用是选择哪种溶液（高渗盐水或亚高渗的低温保护剂溶液还是等渗盐水）流入透析器透析液侧进口5。

蠕动泵P1的作用是将溶液按所要求的流速泵入透析器血液侧，蠕动泵P2的作用是将溶液按所要求的流速泵入透析器透析液侧，蠕动泵P3的作用是控制透析液侧的出口流速，与蠕动泵P2联合工作就可以实现超滤控制。

其具体运行过程如下：

第一步，预填充，电磁阀V1、电磁阀V4打开，蠕动泵P1、蠕动泵P2打开，用等渗盐水溶液冲洗整个系统，持续一段时间确保透析器及整个管路充满等渗溶液。

第二步，预清洗，将电磁阀V1关闭，电磁阀V2打开，让细胞悬浮液的前沿到达透析液血液出口处，此时电磁阀V4关闭，电磁阀V3打开，形成一个细胞悬浮液通过透析器再

返回细胞悬浮液容器的循环。

第三步，清洗，在这一步中，蠕动泵P1继续打开，不断的将等渗盐溶液(或高渗盐溶液)泵入透析器中与细胞悬浮液在中空纤维膜两侧逆向流动，细胞悬浮液中的低温保护剂不断被清除，直至达到清除要求。

第四步，超滤浓缩，蠕动泵P3打开，调整其流速大于蠕动泵P2的流速，这样会在中空纤维膜的内外形成一压差，使溶液从血液侧流向透析液侧，实现超滤控制。

第五步，后处理，将电磁阀V2关闭，电磁阀V1打开，用等渗盐溶液将留在细胞悬浮液管路及透析器中空纤维膜内的细胞悬浮液推出，将所有的细胞回收至细胞悬浮液容器中。

实施例 2:

当用来清洗的细胞溶液体积较小，可采用如图3所示结构装置，具体操作分五步如下：

第一步，预填充，打开阀门V7，阀门V9和阀门V11，注射器12（或蠕动泵）将等渗溶液15吸入透析器1内，关闭阀门V11，打开阀门V12，将这些等渗溶液用注射器13（或蠕动泵）推出至废液容器16，这一步的目的是润湿多孔中空纤维半透膜管通路。完毕后关闭阀门V11和阀门V12。

第二步，打开阀门V10，将细胞悬液14吸入透析器1内，将透析器血液侧的进口和出口上的阀门V9，阀门V10关闭。

第三步，清洗，将透析液侧的蠕动泵P4打开，按照一定的流速流经纤维管外的区域，直到保护剂的去除，达到要求停止（透析液循环与图1相同）。

第四步，超率控制，打开阀门V9，阀门V7和阀门V8中的一个，通过压缩或抽拉注射器调整细胞悬浮液的最终体积。

第五步，将洗脱保护剂后的溶液推出，将透析器血液侧进出口阀门打开，用注射器将洗脱后的溶液推出。一般来说，需要两个注射器才能将细胞完全推出。

实施例 3:

如图1所示去除冷冻复温后细胞悬浮液中低温保护剂的通用细胞处理机也可以实现小体积细胞悬浮液的清洗，只是比实施例2稍微复杂。具体步骤如下：

第一步，预填充等渗溶液，电磁阀V1、电磁阀V4打开，蠕动泵P1、蠕动泵P2打开，用等渗盐水溶液冲洗整个系统，持续一段时间确保透析器及整个管路充满等渗溶液。

第二步，填充细胞悬浮液，将电磁阀V1和电磁阀V4关闭，电磁阀V2和电磁阀V3打开，

让小体积细胞悬浮液完全进入透析器后关闭蠕动泵P1，电磁阀V2和电磁阀V3。

第三步，清洗，在这一步中，运行透析液循环，细胞悬浮液中的低温保护剂不断被清除，直至达到清除要求。

第四步，超滤浓缩，蠕动泵P3打开，调整其流速大于蠕动泵P2的流速，这样会在中空纤维膜的内外形成一压差，使溶液从血液侧流向透析液侧，实现超滤控制。

第五步，后处理，将电磁阀V2关闭，电磁阀V1和电磁阀V3打开，用等渗盐溶液将留在细胞悬浮液管路及透析器中空纤维膜内的细胞悬浮液推出，将所有的细胞回收至细胞悬浮液容器中。

另外，本实用新型除了能用作细胞悬浮液中低温保护剂的通用洗涤机，也能高效快捷无损地实现细胞悬浮液中低温保护剂的添加。其具体操作方法基本上与清除低温保护剂一样，仅需要变通的是将透析液侧的等渗溶液换成高浓度的低温保护剂溶液即可，此时，容器8或14中是要添加低温保护剂的细胞悬浮液。本实用新型实现了细胞悬浮液中低温保护剂的添加和去除一体化。

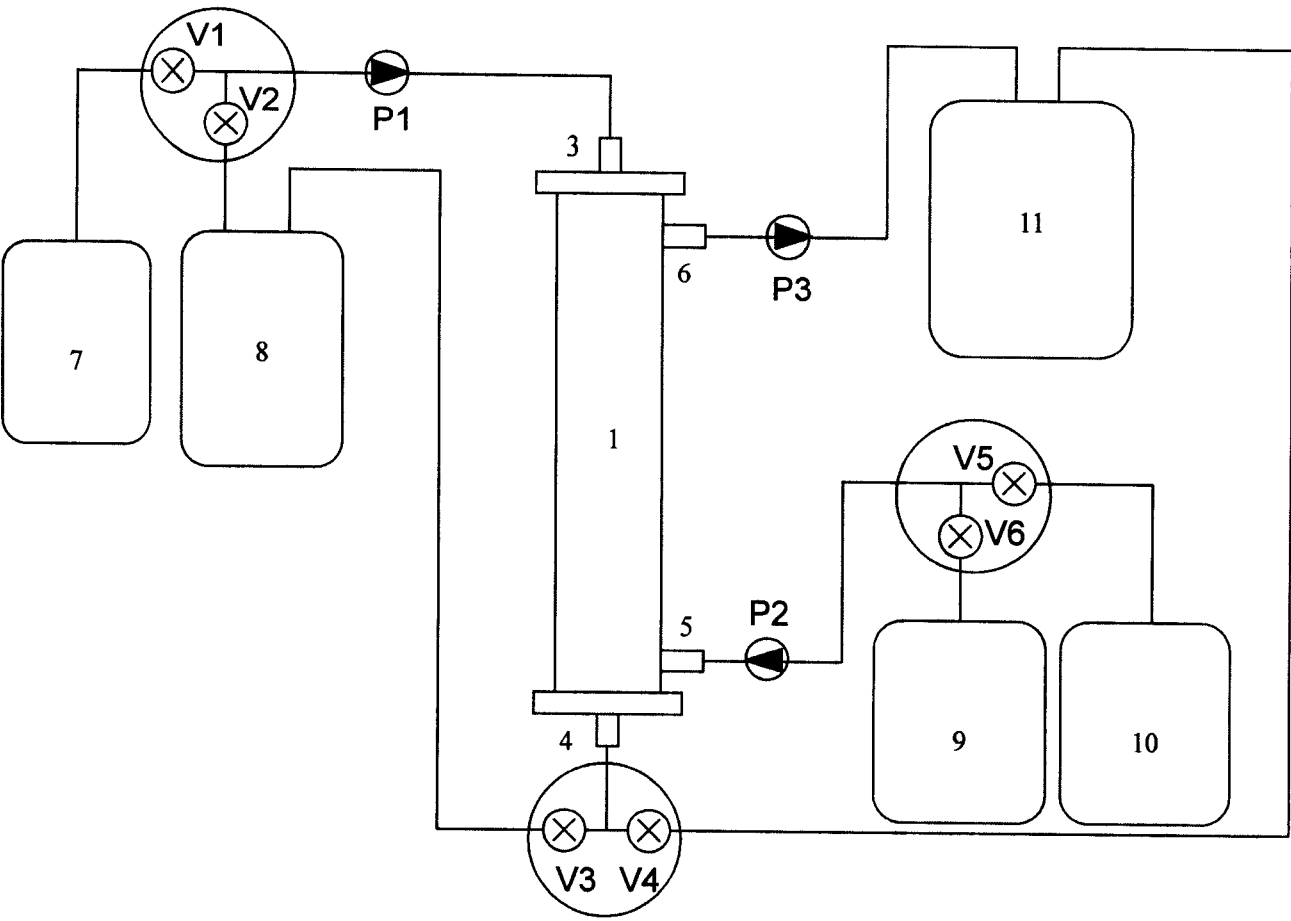


图1

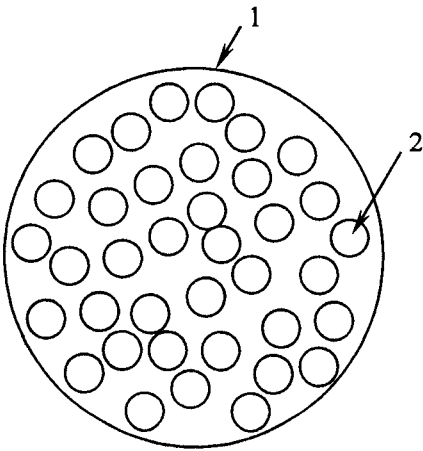


图 2

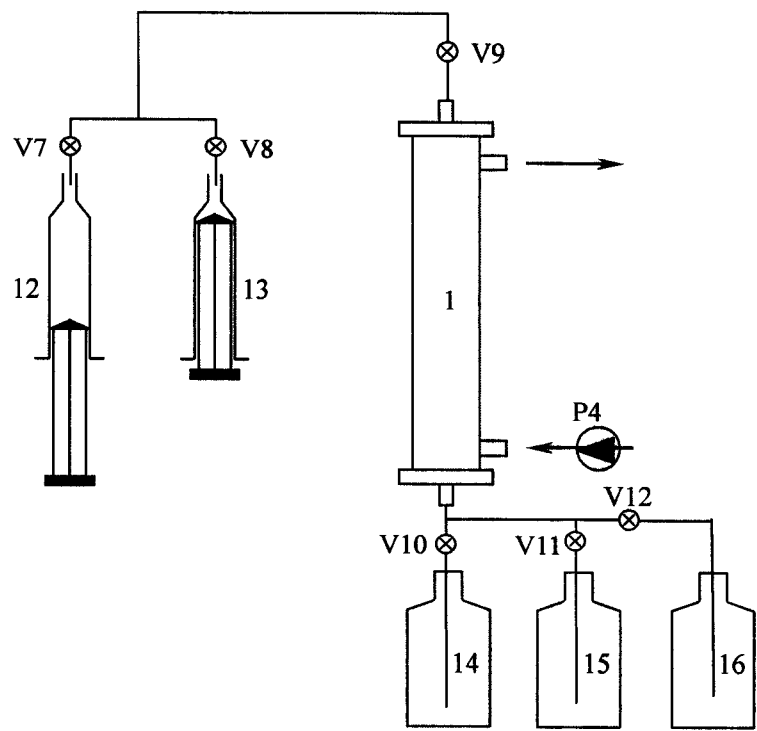


图 3