



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102399680 B

(45) 授权公告日 2013. 05. 22

(21) 申请号 201110377082. 8

(22) 申请日 2011. 11. 24

(73) 专利权人 杭州电子科技大学

地址 310018 浙江省杭州市下沙高教园区 2 号大街

(72) 发明人 李宏

(74) 专利代理机构 杭州求是专利事务有限公司 33200

代理人 杜军

(51) Int. Cl.

C12M 1/00 (2006. 01)

C12M 1/36 (2006. 01)

审查员 李宁

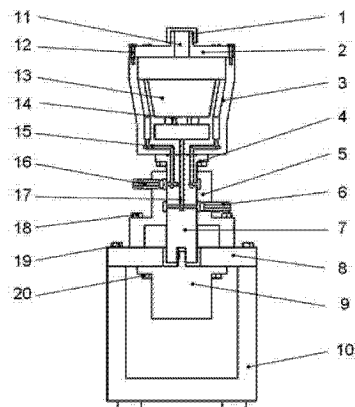
权利要求书2页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

基于 I 型胶原凝胶颗粒制备与收集细胞微球的装置

(57) 摘要

本发明涉及一种基于 I 型胶原凝胶颗粒制备与收集细胞微球的装置。目前对种子细胞的扩增通常的方法仍采用手工培养。本发明中的培养液硫化床托举层流动循环机构形成稳定的培养液流化床层流托举层, 保证细胞和 I 型胶原凝胶颗粒能够稳定的悬浮在托举层上游动, 细胞微球扩增培养室位于培养液硫化床托举层流动循环机构的上方, 用于细胞微球的制备与细胞的扩增, 当细胞微球制备与培养完成后, 采用细胞微球自动收集机构收集细胞微球。本发明采用培养液流动形成流化床托举层悬浮培养扩增细胞微球, 增加了细胞外基质的含量, 采用动旋流收集细胞微球, 克服了采用离心的方法。



1. 基于 I 型胶原凝胶颗粒制备与收集细胞微球的装置, 包括细胞微球扩增培养室、培养液硫化床托举层流动循环机构、细胞微球自动收集机构、控制单元和测量单元, 其特征在于:

培养液硫化床托举层流动循环机构能够形成稳定的培养液流化床层流托举层, 保证细胞和 I 型胶原凝胶颗粒能够稳定的悬浮在托举层上游动, 为细胞在 I 型胶原凝胶颗粒上的粘附创造条件, 细胞微球扩增培养室位于培养液硫化床托举层流动循环机构的上方, 用于细胞微球的制备与细胞的扩增, 当细胞微球制备与培养完成后, 采用细胞微球自动收集机构收集细胞微球;

所述的细胞微球扩增培养室包括密封盖 (1)、上固定端盖板 (2)、细胞微球培养装置 (3)、培养室紧固螺钉 (4)、材料入口 (11)、固定螺钉 (12)、锥形细胞微球培养室 (13) 和培养液流出管 (15);

密封盖 (1) 与上固定端盖板 (2) 上的材料入口 (11) 连接, 并通过固定螺钉 (12) 与细胞微球培养装置 (3) 形成一个封闭的环境; 锥形细胞微球培养室 (13) 在细胞微球培养装置的内层并低于细胞微球培养装置 30-50mm, 锥形细胞微球培养室 (13) 和细胞微球培养装置 (3) 在同一个回转轴上, 锥形细胞微球培养室与细胞微球培养装置的内壁存在 10-20mm 的环状空隙, 间隙的底部开有培养液流出管 (15); 细胞微球扩增培养室通过培养室紧固螺钉 (4) 与培养液硫化床托举层流动循环机构连接;

所述的培养液硫化床托举层流动循环机构包括传动轴密封固定架 (5)、培养液入口 (6)、传动轴 (7)、层流发生板 (14)、培养液流出管 (15)、培养液出口 (16)、培养液流入管 (17)、紧固螺栓 (18) 和电机固定板 (8);

传动轴密封固定架 (5) 与传动轴 (7) 构成一个封闭的环境, 传动轴密封固定架 (5) 的两个凹槽分别对应传动轴的两层管口, 当转轴旋转时, 外界的培养液也能经过培养液入口 (6) 进入传动轴的培养液流入管 (17), 培养液在层流发生板 (14) 下面的缓流容器中调整流动状态, 并经层流发生板 (14) 流入锥形细胞微球培养室 (13) 形成流化床的层流托举层, 多余的培养液从锥形细胞微球培养室 (13) 的边缘流出, 经培养液流出管 (15) 流入培养液出口 (16) 而流出, 形成一个封闭的培养液硫化床托举层流动循环回路; 传动轴密封固定架 (5) 由紧固螺栓 (18) 固定在电机固定板 (8) 上;

所述的细胞微球自动收集机构包括锥形细胞微球扩增培养室 (13)、传动轴密封固定架 (5)、传动轴 (7)、电机固定板 (8)、电机 (9)、电机箱 (10)、材料入口 (11)、电机固定板螺栓 (19)、电机紧固螺栓 (20);

电机 (9) 与传动轴 (7) 连接并由传动轴密封固定架 (5) 固定并保持转动的稳定, 转动轴旋转带动锥形细胞微球扩增培养室 (13), 由于锥形细胞微球扩增培养室 (13) 的侧面倾斜角为  $8-12^{\circ}$ , 旋转能够形成动旋流的流动, 将细胞微球聚集在培养液面的中心位置, 通过材料入口 (11) 插入吸管能够将细胞微球取出, 在细胞微球自动收集机构中, 电机 (9) 由电机紧固螺栓 (20) 与电机固定板 (8) 进行连接固定, 电机固定板 (8) 由电机固定板螺栓 (19) 与电机箱 (10) 固定, 形成一个完整的机构;

所述的控制单元包括触摸屏、可编程控制器、电机、调速器; 通过触摸屏可以对细胞微球扩增制备装置进出参数设置和运行操作, 触摸屏的指令通过数据线传给可编程控制器, 可编程控制器根据预先编制的软件完成对电机的控制, 调速器能够对电机进行调速;

所述的测量单元包括压力传感器、流量传感器、温度传感器、数据采集卡、测量软件、压力传感器和流量传感器采集的数据通过数据线传递给数据采集卡,数据采集卡通过测量软件将数据显示在电脑上。

## 基于 I 型胶原凝胶颗粒制备与收集细胞微球的装置

### 技术领域

[0001] 本发明属于生物医学工程领域,涉及一种细胞微球体外扩增制备与自动收集的装置。特别是涉及一种用于将细胞与 I 型胶原凝胶颗粒复合扩增培养制备成细胞微球,再将细胞微球包被 I 型胶原凝胶形成活性丝线的方法和装置。适合于生物医学工程领域体外大规模扩增细胞和制备具有细胞活性的细胞微球丝线,应用于组织工程复杂组织和器官的精确接种和再生医学的细胞治疗。

### 背景技术

[0002] 在组织工程和再生医学的临床应用中,需要大量的种子细胞,并且需要将这些种子细胞接种到特定的生物材料上进行塑形,由于传统的方法是将贴壁的细胞重新传代接种扩增,大量的细胞外基质和细胞分泌的激素因为反复的清洗而流失;而且,大量的种子细胞是通过手工接种与生物材料进行复合,操作简单繁琐、容易污染、细胞接种不均匀,无法满足组织工程细胞大规模扩增与高密度接种的需要。目前对种子细胞的扩增通常的方法仍是采用培养皿、培养瓶或者多层细胞培养装置进行手工培养,微载体细胞大规模培养主要针对疫苗、基因工程等产品的细胞扩增,不是组织工程理想的选择。种子细胞的搜集与接种仍是通过离心手工完成,无法满足组织工程构建形态复杂的组织的需求。

### 发明内容

[0003] 本发明的目的是提供一种采用 I 型胶原凝胶颗粒为载体,将培养液流动形成动态托举硫化层,悬浮培养扩增细胞微球的装置,达到大量扩增组织工程种子细胞和进行自动收集的目的;对于细胞微球制备装置,可以在细胞进行大规模扩增时,调节装置的流量、I 型胶原凝胶颗粒的密度和位置,使得细胞在最佳的参数下进行扩增培养。

[0004] 本发明解决技术问题所采取的技术方案为:

[0005] 基于 I 型胶原凝胶颗粒制备与收集细胞微球的装置,包括细胞微球扩增培养室、培养液硫化床托举层流动循环机构、细胞微球自动收集机构、控制单元和测量单元。

[0006] 培养液硫化床托举层流动循环机构能够形成稳定的培养液流化床层流托举层,保证细胞和 I 型胶原凝胶颗粒能够稳定的悬浮在托举层上游动,为细胞在 I 型胶原凝胶颗粒上的粘附创造条件,细胞微球扩增培养室位于培养液硫化床托举层流动循环机构的上方,用于细胞微球的制备与细胞的扩增,当细胞微球制备与培养完成后,采用细胞微球自动收集机构收集细胞微球。

[0007] 所述的细胞微球扩增培养室包括密封盖、上固定端盖板、细胞微球培养装置、培养室紧固螺钉、材料入口、固定螺钉、锥形细胞微球培养室和培养液流出管。

[0008] 密封盖与上固定端盖板上的材料入口连接,并通过固定螺钉与细胞微球培养装置形成一个封闭的环境;锥形细胞微球培养室在细胞微球培养装置的内层并低于细胞微球培养装置 30-50mm,锥形细胞微球培养室和细胞微球培养装置在同一个回转轴上,锥形细胞微球培养室与胞微球培养装置的内壁存在 10-20mm 的环状空隙,间隙的底部开有培养液流出

管 ;细胞微球扩增培养室通过培养室紧固螺钉与培养液硫化床托举层流动循环机构连接。

[0009] 所述的培养液硫化床托举层流动循环机构包括传动轴密封固定架、培养液入口、传动轴、层流发生板、培养液流出管、培养液出口、培养液流入管、紧固螺栓和电机固定板。

[0010] 传动轴密封固定架与传动轴构成一个封闭的环境,传动轴密封固定架的两个凹槽分别对应传动轴的两层管口,当转轴旋转时,外界的培养液也能经过培养液入口进入转动轴的培养液流入管,培养液在层流发生板下面的缓流容器中调整流动状态,并经层流发生板流入锥形细胞微球培养室形成流化床的层流托举层,多余的培养液从锥形细胞微球培养室的边缘流出,经培养液流出管流入培养液出口而流出,形成一个封闭的培养液硫化床托举层流动循环回路 ;传动轴密封固定架由紧固螺栓固定在电机固定板上。

[0011] 所述的细胞微球自动收集机构包括锥形细胞微球扩增培养室、传动轴密封固定架、传动轴、电机固定板、电机、电机箱、材料入口、电机固定板螺栓、电机紧固螺栓。

[0012] 电机与传动轴连接并由传动轴密封固定架固定并保持转动的稳定,转动轴旋转带动锥形细胞微球扩增培养室,由于锥形细胞微球扩增培养室的侧面倾斜角为  $8-12^{\circ}$ ,旋转能够形成动旋流的流动,将细胞微球聚集在培养液面的中心位置,通过材料入口插入吸管能够将细胞微球取出,在细胞微球自动收集机构中,电机由电机紧固螺栓与电机固定板进行连接固定,电机固定板由电机固定板螺栓与电机箱固定,形成一个完整的机构。

[0013] 所述的控制单元包括触摸屏、可编程控制器、电机、调速器 ;通过触摸屏可以对细胞微球扩增制备装置和细胞微球成丝装置进出参数设置和运行操作,触摸屏的指令通过数据线传给可编程控制器,可编程控制器根据预先编制的软件完成对电机的控制,调速器能够对电机进行调速。

[0014] 所述的测量单元包括压力传感器、流量传感器、数据采集卡、测量软件 ;压力传感器和流量传感器采集的数据通过数据线传递给数据采集卡,数据采集卡通过测量软件将数据显示在电脑上。

[0015] 本发明的有益效果 :改变了传统的手工细胞扩增的传代模式,克服了不同细胞代此间的差异,采用培养液流动形成流化床托举层悬浮培养扩增细胞微球,增加了细胞外基质的含量,采用动旋流收集细胞微球,克服了采用离心的方法和手工收获种子细胞方法的不足,为组织工程与再生医学的临床应用提供了一种良好的扩增细胞的装置。

## 附图说明

[0016] 图 1 是本发明关于细胞微球扩增制备与收集装置结构图。

## 具体实施方式

[0017] 以下结合附图对本发明作进一步说明。

[0018] 如图 1 所示,基于 I 型胶原凝胶颗粒制备与收集细胞微球的装置,包括细胞微球扩增制备与收集装置、控制单元和测量单元三个部分。

[0019] 细胞微球扩增制备与收集装置 :包括细胞微球扩增培养室、培养液硫化床托举层流动循环机构、细胞微球自动收集机构三部分组成。

[0020] 培养液硫化床托举层流动循环机构能够形成稳定的培养液流化床层流托举层,保证细胞和 I 型胶原凝胶颗粒能够稳定的悬浮在托举层上游动,为细胞在 I 型胶原凝胶颗粒

上的粘附创造条件,细胞微球扩增培养室位于培养液硫化床托举层流动循环机构的上方,用于细胞微球的制备与细胞的扩增,当细胞微球制备与培养完成后,采用细胞微球自动收集机构收集细胞微球。

[0021] 细胞微球扩增培养室包括:密封盖 1、上固定端盖板 2、细胞微球培养装置 3、培养室紧固螺钉 4、材料入口 11、固定螺钉 12、锥形细胞微球培养室 13、培养液流出管 15 等部件;

[0022] 密封盖 1 与上固定端盖板 2 上的材料入口 11 连接,并通过固定螺钉 12 与细胞微球培养装置 3 形成一个封闭的环境。锥形细胞微球培养室 13 在细胞微球培养装置的内层并低于细胞微球培养装置 30-50mm,两者在同一个回转轴上,锥形细胞微球培养室与胞微球培养装置的内壁存在 10-20mm 的环状空隙,间隙的底部开有培养液流出管 15。细胞微球扩增培养室通过培养室紧固螺钉 4 与培养液硫化床托举层流动循环机构连接。

[0023] 培养液硫化床托举层流动循环机构包括:传动轴密封固定架 5、培养液入口 6、传动轴 7、层流发生板 14、培养液流出管 15、培养液出口 16、培养液流入管 17、紧固螺栓 18、电机固定板 8 等部件组成。

[0024] 传动轴密封固定架 5 与传动轴 7 构成一个封闭的环境,传动轴密封固定架 5 的两个凹槽分别对应传动轴的两层管口,当转轴旋转时,外界的培养液也能经过培养液入口 6 进入转动轴 17 的培养液流入管 17,培养液在层流发生板 14 下面的缓流容器中调整流动状态,并经层流发生板 14 流入锥形细胞微球培养室 13 形成流化床的层流托举层,多余的培养液从锥形细胞微球培养室 13 的边缘流出,经培养液流出管 15 流入培养液出口 16 而流出,形成一个封闭的培养液硫化床托举层流动循环回路。传动轴密封固定架 5 由紧固螺栓 18 固定在电机固定板 8 上。

[0025] 细胞微球自动收集机构包括:锥形细胞微球扩增培养室 13、传动轴密封固定架 5、传动轴 7、电机固定板 8、电机 9、电机箱 10、材料入口 11、电机固定板螺栓 19、电机紧固螺栓 20 等部件组成。

[0026] 电机 9 与传动轴 7 连接并由传动轴密封固定架 5 固定并保持转动的稳定,转动轴旋转带动锥形细胞微球扩增培养室 13,由于锥形细胞微球扩增培养室 13 的侧面倾斜角为  $8-12^{\circ}$ ,旋转能够形成动旋流的流动,将细胞微球聚集在培养液面的中心位置,通过材料入口 11 插入吸管能够将细胞微球取出,在细胞微球自动收集机构中,电机 9 由电机紧固螺栓 20 与电机固定板 8 进行连接固定,电机固定板 8 由电机固定板螺栓 19 与电机箱 10 固定,形成一个完整的机构。

[0027] 控制单元由触摸屏、可编程控制器、电机、调速器等元件组成。通过触摸屏可以对细胞微球扩增制备与收集装置进出参数设置和运行操作,触摸屏的指令通过数据线传给控制器,控制器根据预先编制的软件完成对电机的控制,调速器能够对电机进行调速。

[0028] 测量单元包括压力传感器、流量传感器、温度传感器、数据采集卡、测量软件、压力传感器和流量传感器采集的数据通过数据线传递给数据采集卡,数据采集卡通过测量软件将数据显示在电脑上。

[0029] 该细胞微球扩增培养装置的工作过程如下:

[0030] 1、将细胞(各种类型的细胞)与 2-20ml 含 50%-80%I 型胶原凝胶颗粒的培养液通过材料入口 11 注入锥形细胞微球培养室 13,将培养液经培养液入口 6 注入,培养液经过培养

液流入管 17 流经层流发生板 14, 在锥形细胞微球培养室 13 内形成流化床层流托举层, 调节培养液流量的大小, 控制培养液流托举层的形状与强弱, 使得细胞与 I 型胶原凝胶颗粒悬浮在托举层上进行粘附培养, 在培养过程中, 定期通过材料入口 11 将 I 型胶原凝胶颗粒注入锥形细胞微球培养室 13, 促进细胞与 I 型胶原凝胶颗粒的粘附与培养; 在培养过程中, 培养液形成稳定托举层后将通过锥形细胞微球培养室 13 的边缘流出, 经过培养液流出管 15 和培养液出口 16 流出, 形成一个循环的回路, 保证了培养液形成的流化床托举层的稳定。

[0031] 2、当细胞与 I 型胶原凝胶颗粒悬浮在托举层上粘附培养时, 细胞数量不断增加, 为此, 在培养过程中, 定期通过材料入口 11 将 I 型胶原凝胶颗粒注入锥形细胞微球培养室 13, 使得细胞与 I 型胶原凝胶颗粒在流化托举层相互接触粘附, 形成更多新的细胞微球, 新的细胞在 I 型胶原凝胶颗粒上不断扩增形成细胞基质含量丰富的细胞微球, 这样循环往复的培养, 使得细胞不断扩增, 细胞微球的数量也不断增多, 这样连续培养 6-20 天, 达到一定的细胞数量, 结束细胞微球的制备。

[0032] 3、当细胞微球制备完成后, 停止将培养液经培养液入口 6 注入锥形细胞微球培养室 13, 开启电机 9 旋转, 电机转轴通过传动轴 7 带动细胞微球扩增培养装置旋转, 使得锥形细胞微球培养室 13 内的培养液产生动旋流运动, 将细胞微球聚集在培养液的中心表面位置, 采用吸管沿材料入口 11 伸入锥形细胞微球培养室 13 即可将细胞微球取出。

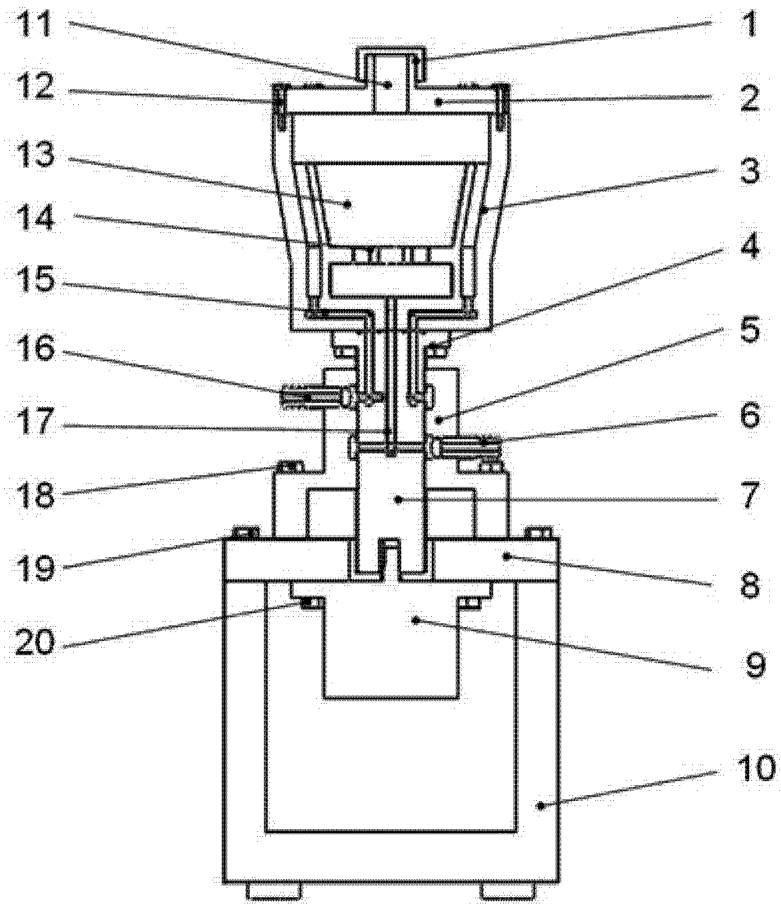


图 1