



# (12) 实用新型专利

(10) 授权公告号 CN 201626959 U

(45) 授权公告日 2010. 11. 10

(21) 申请号 201020106925. 1

C12M 1/34(2006. 01)

(22) 申请日 2010. 02. 01

(73) 专利权人 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所

地址 100193 北京市海淀区圆明园西路 2 号  
中国农科院北京畜牧兽医研究所

(72) 发明人 王皓 牟玉莲 齐念民 石放雄  
李奎

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

代理人 关畅 任风华

(51) Int. Cl.

C12M 3/00(2006. 01)

C12M 1/36(2006. 01)

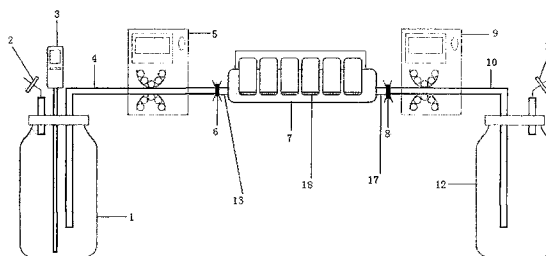
权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 2 页

## (54) 实用新型名称

用于细胞培养的微灌流装置

## (57) 摘要

本实用新型公开了一种用于细胞培养的微灌流装置。该微灌流装置包括灌流瓶和废液瓶，还包括设置在灌流瓶和废液瓶之间的微灌流反应器，所述微灌流反应器的一端设有进液口，另一端设有出液口，所述灌流瓶通过管道与所述微灌流反应器的进液口相连通，所述废液瓶通过管道与所述微灌流反应器的出液口相连通；所述微灌流反应器包括可封闭的槽体和设置在所述槽体内的细胞培养孔板，所述细胞培养孔板包括平板和开在所述平板上的复数个培养孔，所述培养孔的底部是孔径能阻止待培养细胞穿过但能实现细胞培养液通过的半透膜。采用本实用新型，可通过液体流动及时排除细胞代谢毒物，防止细胞代谢物堆积导致的细胞分化，能有效降低污染机率。



1. 用于细胞培养的微灌流装置,包括灌流瓶和废液瓶,其特征在于:所述微灌流装置还包括设置在灌流瓶和废液瓶之间的微灌流反应器,所述微灌流反应器的一端设有进液口,另一端设有出液口,所述灌流瓶通过管道与所述微灌流反应器的进液口相连通,所述废液瓶通过管道与所述微灌流反应器的出液口相连通;

所述微灌流反应器包括可封闭的槽体和设置在所述槽体内的细胞培养孔板,所述细胞培养孔板包括平板和开在所述平板上的复数个培养孔,所述培养孔的底部是孔径能阻止待培养细胞穿过但能实现细胞培养液通过的半透膜。

2. 根据权利要求1所述的微灌流装置,其特征在于:所述灌流瓶与废液瓶的瓶盖上均设有穿过所述瓶盖的气体滤头。

3. 根据权利要求2所述的微灌流装置,其特征在于:所述灌流瓶的瓶盖上设有穿过所述瓶盖的pH计。

4. 根据权利要求1-3任一所述的微灌流装置,其特征在于:所述管道上设置有至少一个蠕动泵。

5. 根据权利要求4所述的微灌流装置,其特征在于:所述灌流瓶与微灌流反应器的进液口之间的管道上设置一个蠕动泵;所述微灌流反应器的出液口和废液瓶之间的管道上设置一个蠕动泵。

6. 根据权利要求1-3任一所述的微灌流装置,其特征在于:所述微灌流反应器的进液口和出液口呈对角分布。

7. 根据权利要求4所述的微灌流装置,其特征在于:所述微灌流反应器的进液口和出液口呈对角分布。

8. 根据权利要求5所述的微灌流装置,其特征在于:所述微灌流反应器的进液口和出液口呈对角分布。

9. 根据权利要求6所述的微灌流装置,其特征在于:所述微灌流反应器的进液口和与所述管道的连接处设有管道夹;所述微灌流反应器的出液口和与所述管道的连接处设有管道夹。

10. 根据权利要求6所述的微灌流装置,其特征在于:所述培养孔的形状是U型或V型。

## 用于细胞培养的微灌流装置

### 技术领域

[0001] 本实用新型涉及生物工程领域,特别涉及一种用于细胞培养的微灌流装置。

### 背景技术

[0002] 胚胎干细胞研究是当前国际生物学领域的一大热点。由体细胞重编程为诱导多能干细胞技术的出现,更是将干细胞研究领域带向了一个新的高度。诱导多能干细胞在细胞形态、生长特性、表面标志物、形成畸胎瘤等方面与小鼠 ES 细胞非常相似,故可定义为类胚胎干细胞。目前很多物种的胚胎干细胞已从体内分离出来并在体外传代培养。由于其能够在体外无限复制并且被诱导分化为任何一种成年功能体细胞,胚胎干细胞在科研医疗诸如基因工程及器官再生治疗等领域有着广阔的应用前景。

[0003] 干细胞从动物体内分离的初期或诱导全能干细胞诱导前期是干细胞适应体外环境和重编程的关键时期,此时期的细胞量少,且筛选后的单克隆需要单独培养。在干细胞向功能细胞分化发展的过程中,每前进一步,干细胞就丧失一些代谢功能,低速新陈代谢的干细胞更易分化成其他类型的细胞,有研究表明,干细胞细胞质内有一个全能的代谢系统的支持。在传统的细胞培养过程中也容易造成乳酸、氨和其它代谢物在培养液中长期积聚,及其它因素诸如高渗透压及活性氧簇的积累,也可能会抑制细胞生长,并必将使细胞最终失去活力和生产力。如果能尽量减少这些不利因素对细胞生长的影响,在更为有效的代谢状态下( $\Delta L/\Delta G$  比率较低时),细胞浓度有可能达到更高。2009年7月,美国德克萨斯大学生物化学系 Wang 等人发表在《science》杂志上的一项研究表明,小鼠胚胎干细胞存在的独特高代谢途径——苏氨酸脱氢酶介导的苏氨酸裂解。该研究对胚胎干细胞代谢的基本理论具有突出的参考价值,揭示了在干细胞培养过程中应满足其特殊的营养需要和高代谢条件。

### 实用新型内容

[0004] 本实用新型的目的在于克服以上现有技术的不足,提供一种既能满足细胞单克隆的独立培养环境,又可及时排除细胞代谢毒物,防止细胞代谢物堆积导致的细胞分化的用于细胞培养的微灌流装置。

[0005] 本实用新型提供的用于细胞培养的微灌流装置,包括灌流瓶和废液瓶,还包括设置在灌流瓶和废液瓶之间的微灌流反应器,所述微灌流反应器的一端设有进液口,另一端设有出液口,所述灌流瓶通过管道与所述微灌流反应器的进液口相连通,所述废液瓶通过管道与所述微灌流反应器的出液口相连通;

[0006] 所述微灌流反应器包括可封闭的槽体和设置在所述槽体内的细胞培养孔板,所述细胞培养孔板包括平板和开在所述平板上的复数个培养孔,所述培养孔的底部是孔径能阻止待培养细胞穿过但能实现细胞培养液通过的半透膜。

[0007] 上述灌流瓶与废液瓶的瓶盖上均设有穿过所述瓶盖的气体滤头。这样可以使得灌流瓶以及废液瓶内的压强与外界相同,并且可以隔绝外界空气中的细菌污染。

[0008] 上述灌流瓶的瓶盖上设有穿过所述瓶盖的 pH 计。pH 计的测量端与灌流瓶内培养

基接触,这样可实时监控灌流瓶内培养基的 PH 变化情况。

[0009] 上述管道上设置有至少一个蠕动泵。这样控制培养基液体在微灌流装置中的流速以适应细胞的营养需求,可控制液体的流速是 0.02-0.45ml/h。

[0010] 具体地讲,所述灌流瓶与微灌流反应器的进液口之间的管道上设置一个蠕动泵;所述微灌流反应器的出液口和废液瓶之间的管道上设置一个蠕动泵。

[0011] 上述微灌流反应器的进液口和出液口呈对角分布,这样可以实现液体交换面积的最大化。

[0012] 所述微灌流反应器的进液口和与所述管道的连接处设有管道夹;所述微灌流反应器的出液口和与所述管道的连接处设有管道夹,这样可以加固连接。

[0013] 上述培养孔的形状可以是 U 型或 V 型。

[0014] 上述半透膜是亲水性半透膜。

[0015] 上述细胞可以是胚胎干细胞或者转基因筛选的阳性细胞单克隆。

[0016] 上述平板和所述培养孔的孔壁是一体成型,也可以通过插接方式实现可拆卸的连接。

[0017] 上述半透性膜可以是 Anopore 膜,该 Anopore 膜为亲水性膜,所述细胞培养孔板中的培养孔可为 96 孔。

[0018] 本实用新型在使用时,培养液置于灌流瓶中,通过蠕动泵的运动将培养液在输入管内输送到进液口,然后进入微灌流反应器内,流经底座,通过 Anopore 膜流入上部的培养孔内,为培养孔内的细胞提供营养,供细胞成长,被细胞使用过的培养基液体可透过 Anopore 膜,到达 Anopore 膜下部,由输出管输送到废液瓶中收集;在培养基液体流速的控制过程中,液体的流速由输入管和输出管上的蠕动泵控制,可随时根据细胞培养的需求调整培养基液体的流速。这样一方面可以使新鲜培养基不断泵入,另一方面含有代谢废物(乳酸、氨等)的废液不断排出,通过调节灌注速率,可以使营养物质和代谢废物与细胞之间的质量传递,降低有害代谢废物浓度积累。

[0019] 本实用新型的用于细胞培养的微灌流装置,不仅可以满足干细胞单克隆的独立培养环境,而且可以实时监控培养基内的 PH 值,通过液体流动及时排除细胞代谢废物,更好的模拟体内环境,防止细胞代谢物堆积导致的细胞分化,促进干细胞克隆和生长;具有操作步骤少,能有效降低污染机率的特点。

#### 附图说明

[0020] 图 1 为本实用新型实施例 1 的结构示意图。

[0021] 图 2 为本实用新型实施例 1 的微灌流反应器的俯视图。

[0022] 图 3 为培养孔的示意图。

[0023] 图号说明:1 灌流瓶,2 和 11 气体滤头,3pH 计,4 输入管,5 和 9 蠕动泵,6 和 8 管道夹,7 微灌流反应器,10 输出管,12 废液瓶,13 进液口,14 底座,15 盖,16 细胞培养孔板,17 出液口,18Anopore 膜,19 培养孔,20 平板。

#### 具体实施方式

[0024] 下面结合具体实施例对本实用新型作进一步说明,但本实用新型并不限于以下实

施例。

[0025] 实施例 1

[0026] 如图 1 所示,一种用于细胞培养的微灌流装置,包括灌流瓶 1 和废液瓶 12。灌流瓶 1 的瓶盖与废液瓶 12 的瓶盖上分别设有穿过各自瓶盖的气体滤头 2 和 11,这样可以使得灌流瓶 1 以及废液瓶 12 内的压强与外界相同,并且可以隔绝外界空气中的细菌污染。灌流瓶 1 上还设有穿过灌流瓶的瓶盖的 pH 计 3, pH 计 3 的测量端与灌流瓶内培养基接触,这样可以实时监控灌流瓶内培养基的 PH 变化情况。

[0027] 如图 1 所示,本发明提供的微灌流装置还包括微灌流反应器 7,该微灌流反应器 7 设置在灌流瓶 1 和废液瓶 12 之间。所述微灌流反应器 7 的一端设有进液口 13,另一端设有出液口 17,其中灌流瓶 1 通过输入管 4 与微灌流反应器 7 的进液口 13 相连通,废液瓶 12 通过输出管 10 与所述微灌流反应器 7 的出液口 17 相连通。为了加固连接,在进液口 13 与输入管 4 的连接处设有管道夹 6,在出液口 17 与输出管 10 的连接处设有另一管道夹 8。如图 2 所示,为实现液体交换面积的最大化,微灌流反应器 7 的进液口 13 和出液口 17 呈对角分布。

[0028] 为了控制培养基液体在微灌流装置中的流速以适应细胞的营养需求,可在输入管 4 和输出管 10 上分别设置蠕动泵 5 和 9,可控制液体的流速是 0.02-0.45ml/h。

[0029] 如图 1 和 2 所示,微灌流反应器 7 包括可封闭的槽体和设置在所述槽体内的细胞培养孔板 16。其中槽体包括底座 14 和盖 15,当盖 15 置于所述底座 14 上即可实现封闭,防止污染。

[0030] 如图 3 所示,细胞培养孔板 16 包括平板 20 和开在所述平板上的复数个培养孔 19。培养孔 19 的底部就是半透膜 18,半透膜 18 与槽体底部(也即底座 14 的底部)的距离为 2mm。

[0031] 半透膜 18 的孔径大小以能阻止待培养细胞的穿过但能实现细胞的培养液通过为准。本实施例中,半透膜 18 是 Anopore 膜,Anopore 膜的孔径是 0.2  $\mu$ m。培养孔 19 的形状可为 U 型或 V 型,本实施例中采用 U 型。

[0032] 在制作细胞培养孔板 16 时,平板 20 与培养孔 19 的孔壁可以一体成型,也可以通过插接方式实现可拆卸的连接,本实施例中优选地采用一体成型的方式连接了平板 20 与培养孔 19 的孔壁,然后在每个培养孔 19 的下部粘有 Anopore 膜,构成培养孔 19 的底部。

[0033] 本实用新型在使用时,培养液置于灌流瓶 1 中,通过蠕动泵 5 的运动将培养液在输入管 4 内输送到进液口 13,然后进入微灌流反应器 7 内,流经底座 14,通过 Anopore 膜 18 流入的培养孔 19 内,为培养孔 19 内的细胞提供营养,供细胞成长,被细胞使用过的培养基液体可透过 Anopore 膜 18,到达 Anopore 膜 18 下部,由输出管 10 输送到废液瓶 12 中收集;在培养基液体流速的控制过程中,液体的流速由输入管 4 和输出管 10 上的蠕动泵 5 和 9 控制,可随时根据细胞培养的需求调整培养基液体的流速。这样一方面可以使新鲜培养基不断泵入,另一方面含有代谢废产物(乳酸、氨等)的废液不断排出,通过调节灌注速率,可以使营养物质和代谢废产物与细胞之间的质量传递,降低有害代谢废物浓度积累。

[0034] 以上所述之实施方式为本实用新型的实施例之一,并非以此限制本实用新型的实施范围,故凡依本实用新型之形状、构造及原理所做的等效变化,均应涵盖在本实用新型的保护范围内。

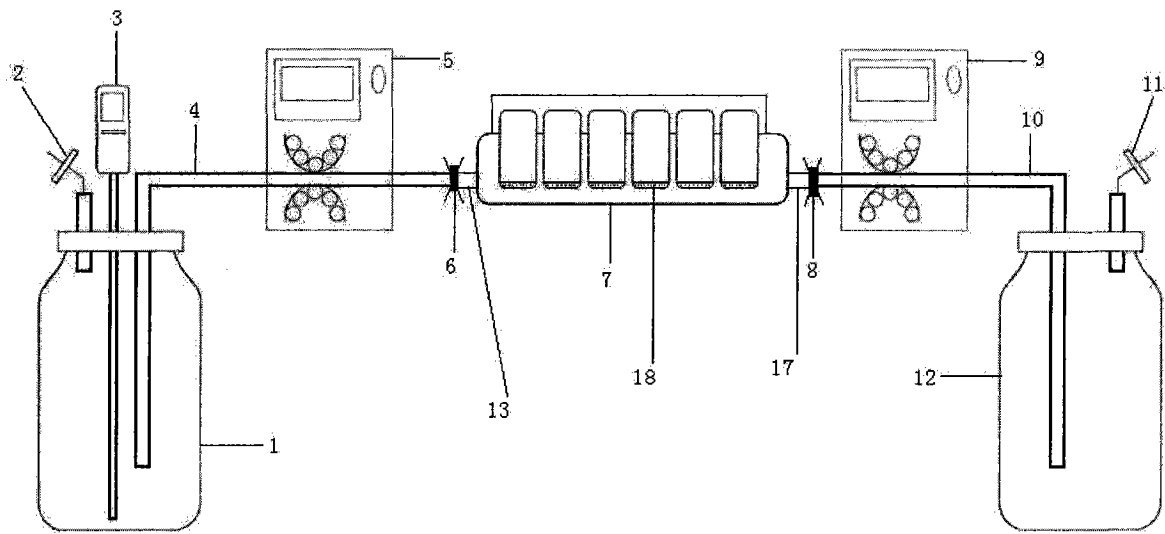


图 1

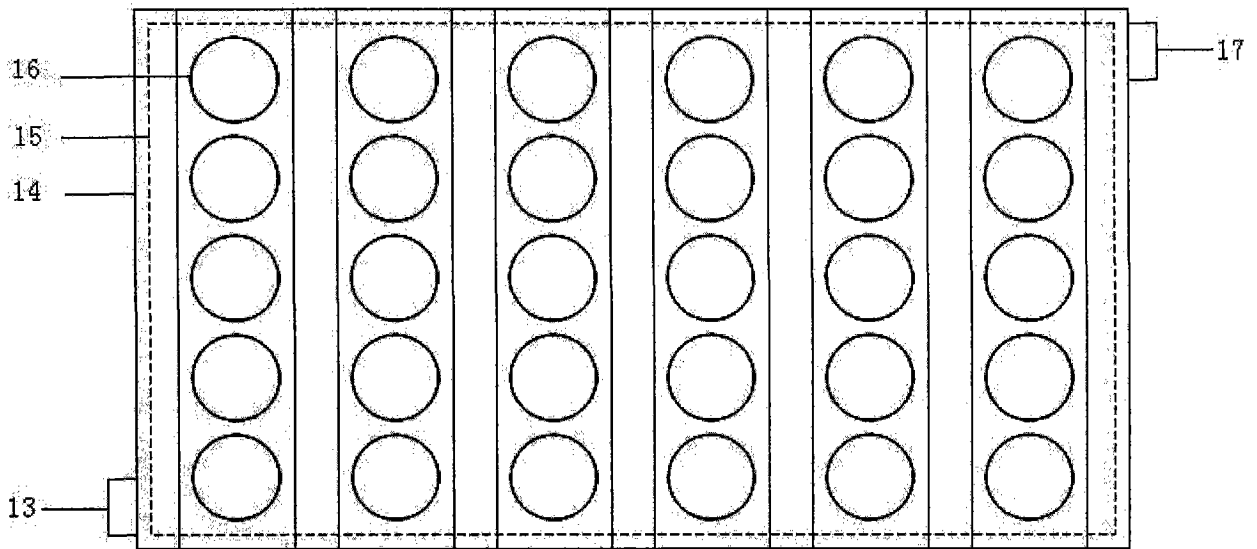


图 2

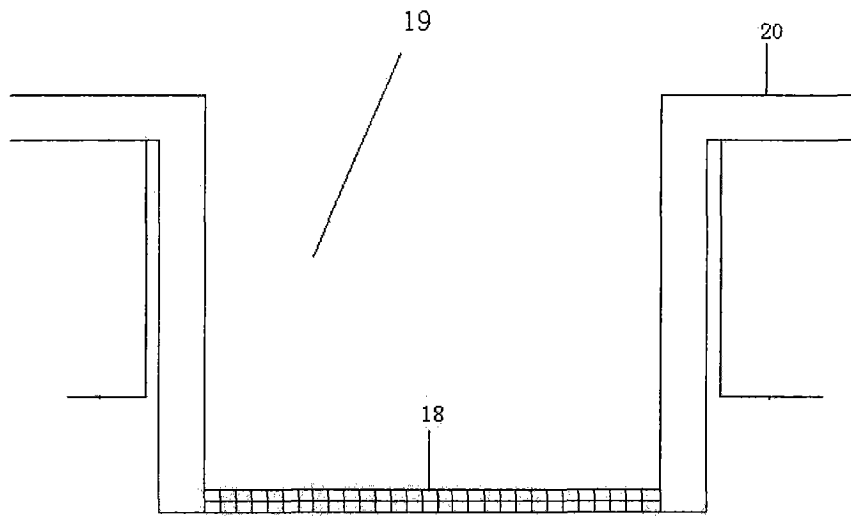


图 3