



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111423983 B

(45) 授权公告日 2022.03.15

(21) 申请号 202010268259.X

(22) 申请日 2020.04.08

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 111423983 A

(43) 申请公布日 2020.07.17

(73) 专利权人 中国科学院力学研究所  
地址 100190 北京市海淀区北四环西路15号

(72) 发明人 孙树津 龙勉

(74) 专利代理机构 北京和信华成知识产权代理  
事务所(普通合伙) 11390  
代理人 胡剑辉

(51) Int.Cl.  
G12M 3/04 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 103484361 A, 2014.01.01  
CN 110835600 A, 2020.02.25  
CN 202246642 U, 2012.05.30  
JP 2018023291 A, 2018.02.15  
CN 104342370 A, 2015.02.11

审查员 常子月

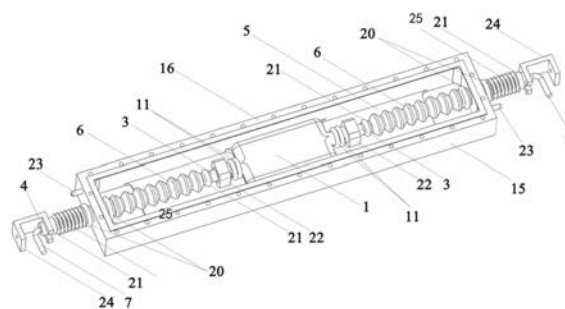
权利要求书1页 说明书5页 附图4页

(54) 发明名称

一种可扩张基底细胞连续扩增培养器

(57) 摘要

本发明涉及一种可扩张基底细胞连续扩增培养器,包括:硅胶培养室、以及对置于所述硅胶培养室两侧的拉杆组件和硅胶溶液导管,其中所述硅胶培养室、拉杆组件和硅胶溶液导管均设置于水压室内;所述硅胶培养室通过设置于所述硅胶培养室内部的支撑组件与所述拉杆组件连接,形成用于扩张所述硅胶培养室面积的拉杆系统,其中,通过拉动所述支撑组件,对硅胶培养室的培养基底面积进行逐步扩张,从而避免细胞增殖后形成接触抑制;所述拉杆内部中空,所述硅胶溶液导管从所述拉杆内部穿出,用于在细胞培养时为所述硅胶培养室进行换液。以此满足柔性培养室自动化控制及换液、防止污染、防止培养液蒸发和气泡生成以及在线监测的综合性能需求。



1. 一种可扩张基底细胞连续扩增培养器,其特征在于,包括:硅胶培养室、以及对置于所述硅胶培养室两侧的拉杆组件和硅胶溶液导管,其中所述硅胶培养室、拉杆组件和硅胶溶液导管均设置于水压室内;

所述硅胶培养室通过设置于所述硅胶培养室内部的支撑组件与所述拉杆组件连接,形成用于扩张所述硅胶培养室面积的拉杆系统,其中,通过拉动所述支撑组件,对硅胶培养室的培养基底面积进行逐步扩张,从而避免细胞增殖后形成接触抑制;

所述拉杆内部中空,所述硅胶溶液导管从所述拉杆内部穿出,用于在细胞培养时为所述硅胶培养室进行换液;

所述支撑组件包括:两个对置于所述硅胶培养室的支撑拉杆,所述支撑拉杆是由于两个相互垂直设置的圆柱体构成呈T型结构,所述支撑拉杆中的第一圆柱体设置于所述硅胶培养室内部,用于支撑所述硅胶培养室的开口,所述支撑拉杆中的第二圆柱体由所述硅胶培养室的两侧开口穿出,且与所述拉杆组件连接,其中,所述支撑拉杆与所述硅胶培养室的开口之间采用胶圈密封;

所述拉杆组件包括:顺次与所述支撑组件连接的第一拉杆和第二拉杆,其中,所述第二拉杆的一端延伸出所述水压室,且与驱动组件连接,驱动组件上设置有用于与驱动电机连接的螺孔;

所述拉杆组件与所述拉杆通道之间采用第一硅胶波纹管进行密封,所述第一硅胶波纹管一端固定于所述拉杆通道上,所述第一硅胶波纹管的另一端固定于所述第一拉杆上,通过所述第一拉杆移动带动所述硅胶波纹管移动,从而保证所述水压室的密封;

所述水压室两侧还设有第二硅胶波纹管,所述第二硅胶波纹管的一端固定于与所述拉杆通道上,所述第二硅胶波纹管的另一端固定于所述第二拉杆上,当所述第一硅胶波纹管处于拉伸状态时,所述第二硅胶波纹管处于压缩状态,从而以双重密封确保所述水压室密封的可靠性。

2. 根据权利要求1所述的培养器,其特征在于,所述水压室包括:水压室盖和水压室本体,所述水压室盖与水压室本体之间采用胶垫密封,且所述水压室盖通过螺栓固定于所述水压室本体上。

3. 根据权利要求1所述的培养器,其特征在于,所述支撑拉杆的第一圆柱体内设有用于均匀更换所述硅胶培养室内培养液的狭缝,所述支撑拉杆的第二圆柱体设有水嘴,所述狭缝与所述水嘴连通,且通过所述水嘴与所述硅胶溶液导管连接,以此形成所述硅胶培养室的独立液体进出通道,且与所述水压室内的液体进行隔离。

## 一种可扩张基底细胞连续扩增培养器

### 技术领域

[0001] 本发明实施例涉及生物技术领域,尤其涉及一种可扩张基底细胞连续扩增培养器。

### 背景技术

[0002] 对贴壁生长的正常细胞进行扩增培养时,细胞增殖后将长满培养基相互接触形成接触抑制而停止分裂增殖。如继续进行扩增培养,一般需要将细胞用胰蛋白酶从基底上消化下来,制成细胞悬液,稀释后重新传代接种。消化传代过程中,由于胰蛋白酶的作用,以及制备细胞悬液时的吹打等操作,将不可避免地对部分细胞造成损伤,并增加污染的风险。对于特定种类细胞,接触抑制、胰蛋白酶消化还可能影响细胞的结构和功能。如果在细胞增殖的过程中,培养基的面积能缓慢地扩张,使细胞间始终存在间隙,避免接触抑制,则细胞可以避免胰蛋白酶消化,连续增殖。硅胶作为具有良好生物相容性且具有优良弹性机械性能的材料,是作为可扩张细胞培养基的优选材料。但对弹性硅胶基底进行扩张,必须在培养容器中增加机械夹持结构,并且对这些机械结构进行动态操作,这大大增加了细胞培养时的污染风险。对于规模化的细胞扩增培养,污染将造成重大损失。规模化细胞培养还需要增加自动化操作性能以节省人力,同时能够对细胞生长状态进行在线监视。

[0003] 目前的实验室细胞扩增装置,基本都采用可扩张的硅胶基底,有采用单轴双向扩张也有周向扩张方式。但这些装置基本上是将可扩张基底置于一个加盖容器内,不利于在进行规模化扩增同时防止污染和自动化操作。也有利用硅胶作为培养容器而进行容器基底变形操作的,这使培养容器作为一个整体利于防治污染。但如果能够进行较大基底变形,需要硅胶足够薄,自动换液时由于液体驱动压力的存在,硅胶容器容易膨胀变形,流入的新培养液不能及时推出原有培养液,致使换液效率降低,并且使基底变形不易控制。此外由于硅胶透气性能很好,内部培养液蒸发容易产生气泡,当气泡过大停留在细胞生长区域会对细胞物质交换产生影响。柔性的硅胶培养室(1)拉伸扩张时由于硅胶培养室(1)容积变化也可能产生气泡。

[0004] 因此,弹性基底细胞扩增培养器需要满足基底面积持续扩张、细胞免消化连续扩增、防止污染、防止液体蒸发及气泡生成、自动化操作、在线监视等综合性能需求。

### 发明内容

[0005] 本申请实施例提供了一种可扩张基底细胞连续扩增培养器,以此满足柔性培养室自动化控制及换液、防止污染、防止培养液蒸发和气泡生成以及在线监测的综合性能需求。

[0006] 本实施例提供了一种可扩张基底细胞连续扩增培养器,包括:硅胶培养室、以及对置于所述硅胶培养室两侧的拉杆组件和硅胶溶液导管,其中所述硅胶培养室、拉杆组件和硅胶溶液导管均设置于水压室内;

[0007] 所述硅胶培养室通过设置于所述硅胶培养室内部的支撑组件与所述拉杆组件连接,形成用于扩张所述硅胶培养室面积的拉杆系统,其中,通过拉动所述支撑组件,对硅胶

培养室的培养基底面积进行逐步扩张,从而避免细胞增殖后形成接触抑制;

[0008] 所述拉杆内部中空,所述硅胶溶液导管从所述拉杆内部穿出,用于在细胞培养时为所述硅胶培养室进行换液。

[0009] 在一个可能的实施方式中,所述水压室包括:水压室盖和水压室本体,所述水压室盖与水压室本体之间采用胶垫密封,且所述水压室盖通过螺栓固定于所述水压室本体上。

[0010] 在一个可能的实施方式中,所述支撑组件包括:两个对置于所述硅胶培养室的支撑拉杆,所述支撑拉杆是由于两个相互垂直设置的圆柱体构成呈T型结构,所述支撑拉杆中的第一圆柱体设置于所述硅胶培养室内部,用于支撑所述硅胶培养室的开口,所述支撑拉杆中的第二圆柱体由所述硅胶培养室的两侧开口穿出,且与所述拉杆组件连接,其中,所述支撑拉杆与所述硅胶培养室的开口之间采用胶圈密封。

[0011] 在一个可能的实施方式中,所述支撑拉杆的第一圆柱体内设有用于均匀更换所述硅胶培养室内培养液的狭缝,所述支撑拉杆的第二圆柱体设有水嘴,所述狭缝与所述水嘴连通,且通过所述水嘴与所述硅胶溶液导管连接,以此形成所述硅胶培养室的独立液体进出通道,且与所述水压室内的液体进行隔离。

[0012] 在一个可能的实施方式中,所述拉杆组件包括:顺次与所述支撑组件连接的第一拉杆和第二拉杆,其中,所述第二拉杆的一端延伸出所述水压室,且与驱动组件连接,驱动组件上设置有用与驱动电机连接的螺孔。

[0013] 在一个可能的实施方式中,所述拉杆组件与所述拉杆通道之间采用第一硅胶波纹管进行密封,所述第一硅胶波纹管一端固定于所述水压室内壁的拉杆通道上,所述第一硅胶波纹管的另一端固定于所述第一拉杆上,通过所述第一拉杆移动带动所述硅胶波纹管移动,从而保证所述水压室的密封。

[0014] 在一个可能的实施方式中,所述水压室两侧还设有第二硅胶波纹管,所述第二硅胶波纹管的一端固定于与所述水压室内壁的拉杆通道上,所述第二硅胶波纹管的另一端固定于所述第二拉杆上,当所述第一硅胶波纹管处于拉伸状态时,所述第二硅胶波纹管处于压缩状态,从而双重密封确保所述水压室密封的可靠性,从而以双重密封确保所述水压室密封的可靠性。

[0015] 本发明实施例提供一种可扩张基底细胞连续扩增培养器,满足细胞培养基底面积持续扩张、细胞免消化连续扩增的同时,通过独立的供液系统和外围的水压室,满足柔性培养室自动化控制及换液、防止污染、防止培养液蒸发和气泡生成以及在线显微监测的综合性能需求,培养基底扩张速率可以通过程序设定和控制,以适应不同种类细胞扩增的需求。

## 附图说明

[0016] 为使本申请实施例的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将结合本申请实施例中的附图,对本申请实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例是本申请的一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本申请中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动的前提下所获得的所有其他实施例,都属于本申请保护的范围。

[0017] 图1为本申请实施例提供的可扩张基底细胞连续扩增培养器示意图;

[0018] 图2为本申请实施例提供的可扩张基底细胞连续扩增培养器纵剖面示意图;

- [0019] 图3为本申请实施例提供的硅胶培养室外形示意图；
- [0020] 图4为本申请实施例提供的硅胶培养室纵剖面示意图；
- [0021] 图5为本申请实施例提供的硅胶培养室和支撑拉杆结构连接示意图；
- [0022] 图6为本申请实施例提供的硅胶培养室和支撑拉杆结构拆分示意图；
- [0023] 图7为本申请实施例提供的硅胶培养室及拉杆系统、培养液通道系统的示意图；
- [0024] 图8为本申请实施例提供的硅胶培养室及拉杆系统、培养液通道系统的纵剖面示意图。

### 具体实施方式

[0025] 为使本发明实施例的目的、技术方案和优点更加清楚，下面将结合本发明实施例中的附图，对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的实施例只是本发明一部分实施例，而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例，本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动成果前提下所获得的所有其他实施例，都属于本发明的保护范围。

[0026] 需要说明，若本发明实施例中有涉及方向性指示(诸如上、下、左、右、前、后等)，则该方向性指示仅用于解释在某一特定姿态下各部件之间的相对位置关系，运动情况等，如果该特定姿态发生改变时，则该方向性指示也相应地随之改变。

[0027] 本实施例提供一种可扩张基底细胞连续扩增培养器如图1、图2所示，该培养器包括：硅胶培养室1、以及对置于硅胶培养室1两侧的拉杆组件和硅胶溶液导管7，其中，硅胶培养室1、拉杆组件和硅胶溶液导管7均设置于水压室5内；硅胶培养室1通过设置于硅胶培养室内部的支撑组件与拉杆组件连接，形成用于扩张硅胶培养室面积的拉杆系统，其中，通过拉动支撑组件，对硅胶培养室1的培养基底面积进行逐步扩张，从而避免细胞增殖后形成接触抑制。使细胞在无需消化传代的条件下连续分裂增殖。本实施例中的硅胶培养室1最大扩张面积可达300%。因培养室初始培养面积为 $25\text{cm}^2$ ，即扩张300%后可达近 $75\text{cm}^2$ 。

[0028] 图3、图4为本发明实施例提供的硅胶培养室外形示意图及纵剖面示意图，如图3、图4示出了硅胶培养室1的外形和内部空间以及壁厚、开口10位置。硅胶培养室由硅胶薄膜制成，壁厚0.2mm，硅胶培养室约长50mm，宽27mm，高8mm，内部一侧底面有效细胞培养面积约 $12.5\text{cm}^2$ ，因而上下两侧培养基底面积共约 $25\text{cm}^2$ ，相当于常规T25培养瓶的培养面积。容积约10ml。

[0029] 本实施例中的水压室包括：水压室盖14和水压室本体15，水压室盖14与水压室本体15之间采用水压室密封垫16密封，且水压室盖14通过螺栓18固定于水压室本体15上。

[0030] 具体的，水压室密封垫16平整铺放在水压室本体15上，盖上水压室盖14并用螺栓18将水压室盖14和密封垫16压紧密封，即完成培养器的组装。通过硅胶溶液导管7可为硅胶培养室1注入细胞悬液进行细胞接种。通过水压室水嘴23可为水压室5注入水为水压室5充压。

[0031] 需要说明的是：硅胶培养室1在使用时浸于充满水的水压室5内，可以避免由于硅胶的透气性使培养液蒸发产生气泡影响细胞物质交换和生长。

[0032] 本实施例中的支撑组件如图5、6所示，支撑组件为两个支撑拉杆2，支撑拉杆是由于两个相互垂直设置的圆柱体构成呈T型结构，其中，支撑拉杆的中的第一圆柱体8设置于

硅胶培养室1的内部,用于支撑硅胶培养室的开口10,支撑拉杆2的第二圆柱体9由硅胶培养室1的开口10穿出,且与拉杆组件连接,其中,硅胶培养室的开口之间采用两个胶圈套紧密封,以确保硅胶培养室1的培养液不会泄露。胶圈为O型胶圈11。

[0033] 支撑拉杆2的第一圆柱体8内设有狭缝12,支撑拉杆2的第二圆柱体9设有水嘴13,狭缝12与水嘴13连通,且通过水嘴13与硅胶溶液导管7连接,以此形成硅胶培养室1的液体进出通道,同时还能够隔离与水压室内5的液体,其中,水嘴13与第一拉杆3之间以O型胶圈17密封。

[0034] 本实施例中第一圆柱体8的狭缝有利于硅胶培养室内的培养液被均匀更换,避免培养液流动剖面不均匀导致硅胶培养室边角部分培养更换不彻底的情况。

[0035] 本实施例中的拉杆组件内部构成拉杆通道,硅胶溶液导管7设置于拉杆通道内,用于在细胞培养时为硅胶培养室进行换液。硅胶溶液导管7根据需要可以连接外围蠕动泵管或其他液体输送管路。例如,细胞扩增培养时,可利用蠕动泵等设备驱动培养液,通过硅胶溶液导管为硅胶培养室换液。

[0036] 需要说明的是,换液时,由于硅胶培养室外部的水压室水压的存在,将避免压力驱动的液体造成柔性硅胶培养室膨胀变形而使液体在硅胶培养室内滞留导致换液不充分的情况。水压室水压同时可避免拉伸扩张时硅胶培养室容积变化而产生气泡。

[0037] 本实施例中的拉杆组件如图7、图8所示,该拉杆组件包括:顺次与支撑组件连接的第一拉杆3和第二拉杆4,其中,第二拉杆4的一端延伸出水压室5,且与驱动组件24连接,驱动组件24上设置有用于与驱动电机连接的螺孔(结合图1,图2)。

[0038] 支撑拉杆2的水嘴13与第一拉杆3之间以O型胶圈17密封,以防止水压室5内液体泄露。支撑拉杆2、第一拉杆3和第二拉杆4组成上述的拉杆系统,硅胶培养室1和支撑拉杆2的狭缝12、水嘴13以及硅胶溶液导管7组成了培养液通道系统,该培养液通道系统与水压室5内液体相互隔离。另外第一拉杆3上还套有拉杆支撑22,用于确保拉杆拉动硅胶培养室1时,培养室基底保持在一个平面上而利于显微观察。

[0039] 如图1、图2所示,拉杆组件与拉杆通道19之间采用第一硅胶波纹管6进行密封,第一硅胶波纹管6一端采用O型胶圈20套紧固定于拉杆通道19上,用于水压室5的密封第一硅胶波纹管6的另一端采用O型胶圈20固定于第一拉杆3上,通过第一拉杆3移动带动第一硅胶波纹管4移动,从而保证水压室5的密封。

[0040] 由于这是一个动密封结构,为确保密封可靠,本实施例还在水压室5的两侧增加第二硅胶波纹管25,第二硅胶波纹管25的一端用O型胶圈20套紧固定在拉杆通道19上,第二硅胶波纹管25的另一端用O型胶圈21套紧在第二拉杆4上,起到双重密封的作用。当水压室5内侧硅胶波纹管6处于拉伸状态,水压室5外侧硅胶波纹管6则处于压缩状态,或者,当水压室5内侧硅胶波纹管6处于压缩状态,水压室5外侧硅胶波纹管6则处于拉伸状态。

[0041] 本申请的可扩张基底细胞连续扩增培养器,具体操作流程为:

[0042] 将安装好的培养器整体进行灭菌处理。灭菌后置于超净工作台中操作。硅胶培养室1内壁需用基质蛋白溶液孵育后以利于细胞粘附。接种细胞时,用一个注射器将配制好的细胞悬液约10ml从硅胶溶液导管7的一端注入到硅胶培养室1内,将两端硅胶溶液导管7用管夹栓堵,然后将培养器放入二氧化碳孵箱中6小时以上,待细胞贴壁后,重新将培养器置于超净工作台内。通过水压室水嘴23为水压室5注满灭菌后的水并排除气泡,然后将两端水

嘴23栓堵。

[0043] 再次用一个注射器将配制好的细胞悬液约10ml从硅胶管7的一端注入到硅胶培养袋1内,推出原有的溶液。然后将培养器倒置,放入二氧化碳孵箱中6小时以上,待细胞在硅胶培养室1的另一侧贴壁。在超净工作台内排除硅胶培养室1和两端硅胶溶液导管7内的气泡,将两端硅胶溶液导管7与供液或循环管路相连。将第二拉杆4末端的驱动组件24与驱动电机等部件连接,设定好基底拉伸扩张程序,放入二氧化碳孵箱中即可进行连续扩增培养。

[0044] 以上对发明的具体实施方式进行了详细说明,但是作为范例,本发明并不限制与以上描述的具体实施方式。对于本领域的技术人员而言,任何对该发明进行的同等修改或替代也都在本发明的范畴之中,因此,在不脱离本发明的精神和原则范围下所作的均等变换和修改、改进等,都应涵盖在本发明的范围内。

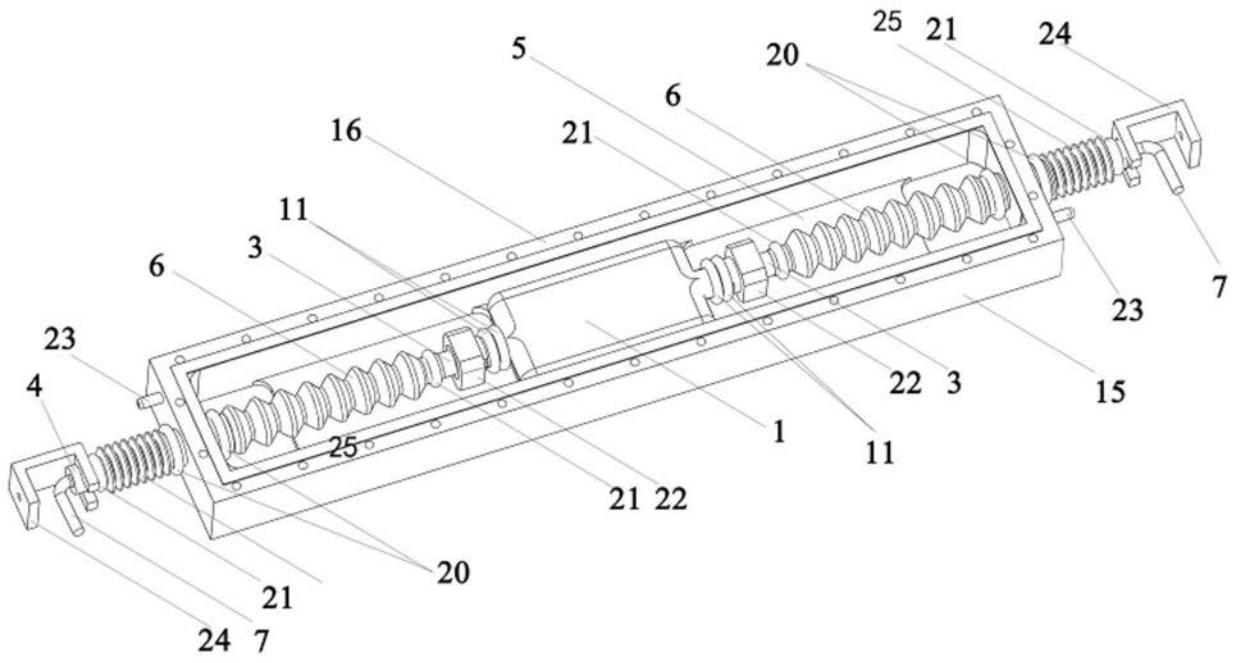


图1

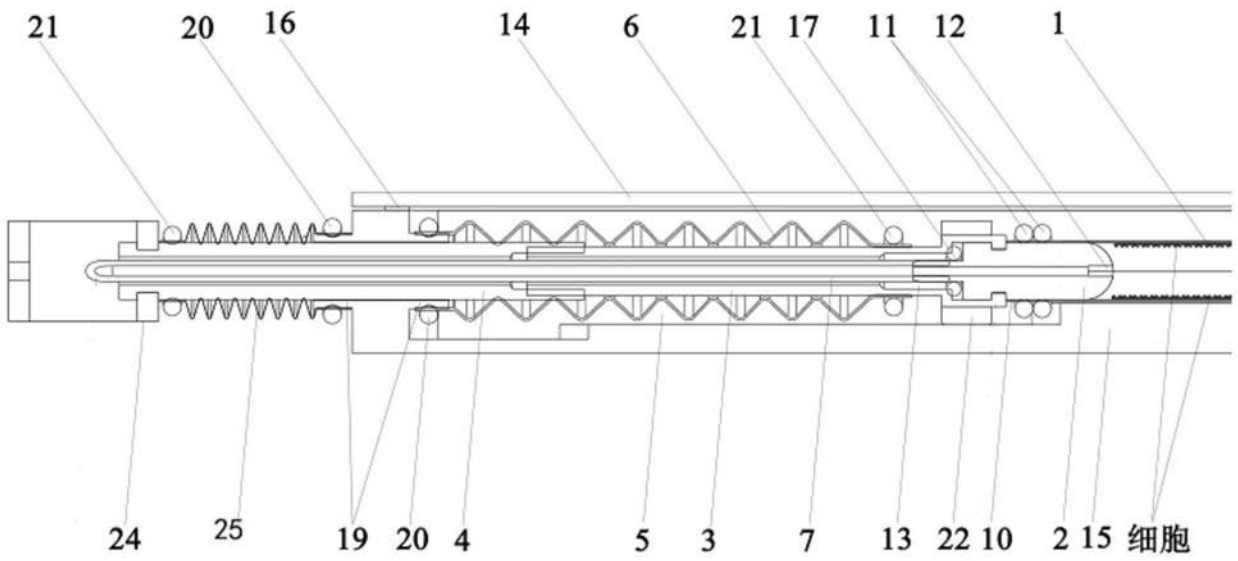


图2



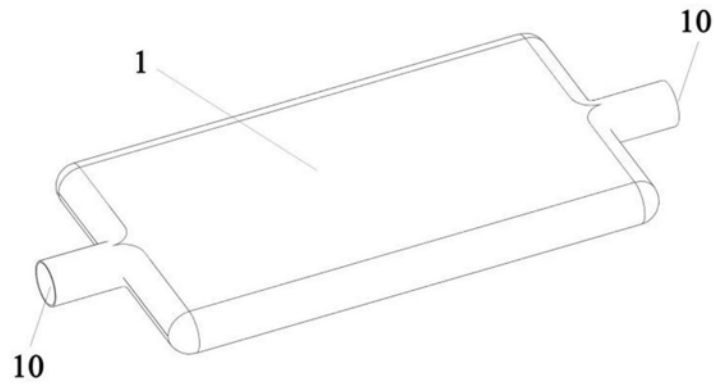


图3

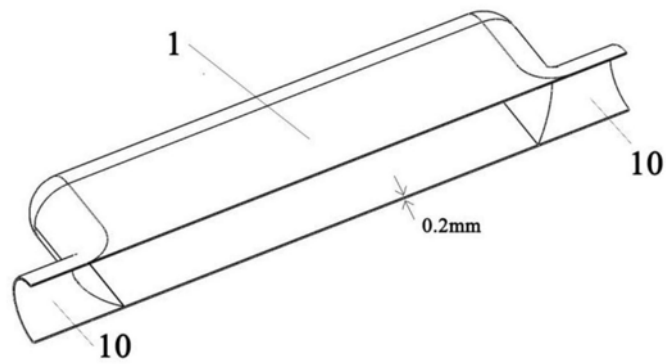


图4

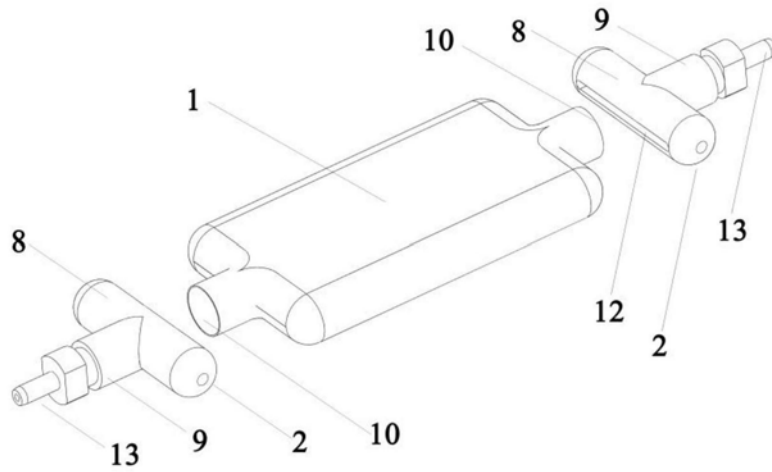


图5

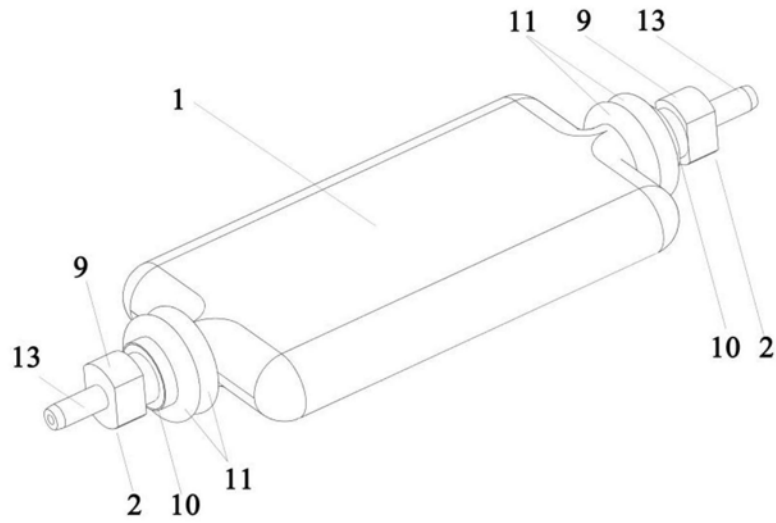


图6

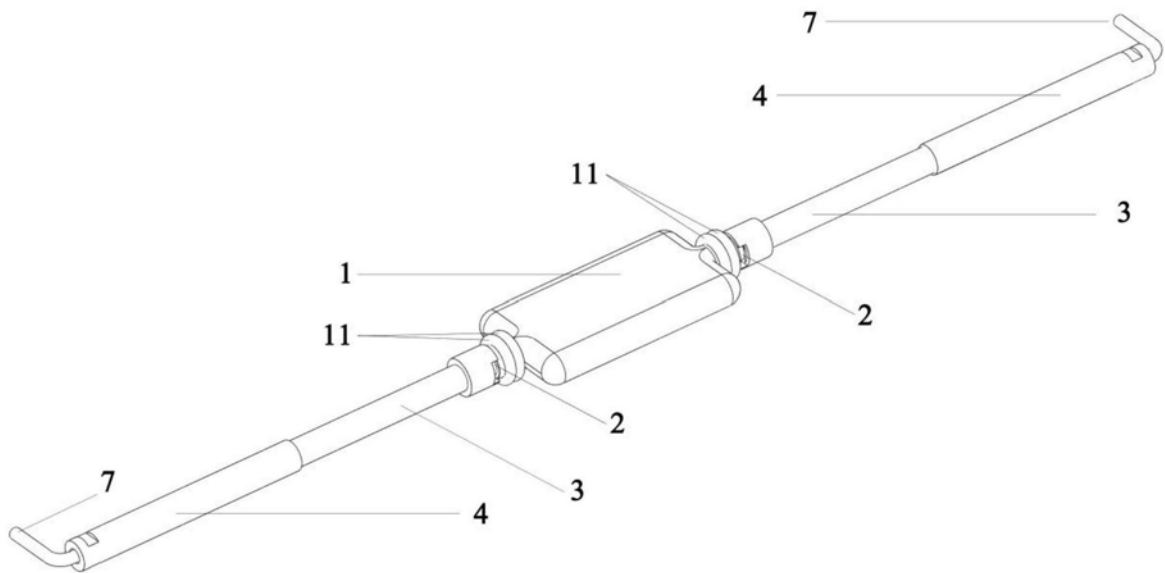


图7

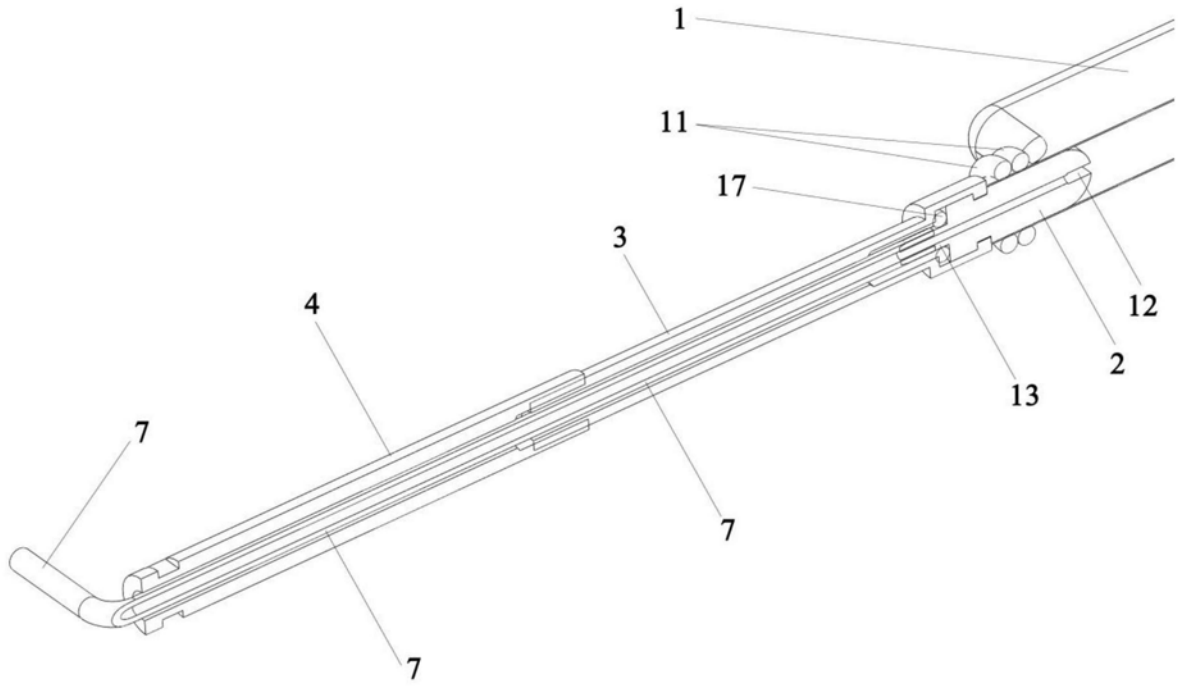


图8