



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111423980 B

(45) 授权公告日 2022.03.15

(21) 申请号 202010268386.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 111423980 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.
C12M 3/00 (2006.01)
C12M 1/36 (2006.01)

(56) 对比文件

- CN 104342370 A, 2015.02.11
- CN 103484361 A, 2014.01.01
- CN 110835600 A, 2020.02.25
- CN 1847847 A, 2006.10.18
- US 2019390152 A1, 2019.12.26

审查员 常子月

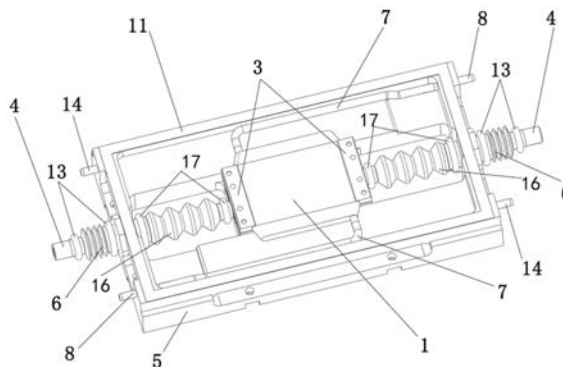
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统

(57) 摘要

本发明实施例涉及一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统,能够实现对常规培养数量细胞的基底进行拉伸和流动剪切复合加载,并能够定量控制加载参数,自动化操作。利用电机带动驱动机构拉动两端拉杆,通过编程设定拉伸变形比例、拉伸速度、往复拉伸频率,即可实现定量控制的静态或动态拉伸。利用蠕动泵驱动培养液,通过设定蠕动泵流量即可实现定量控制的流动剪切。通过编程设定分别设定基底拉伸和流动剪切的作用时间即可进行不同复合加载方式的组合。



1. 一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统,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夹具以及拉杆,其中所述硅胶培养室和夹具均设置于水压室内;

所述硅胶培养室通过设置于所述硅胶培养室内部的支撑杆与所述夹具连接,且通过所述夹具与所述拉杆连接,通过电机控制所述拉杆对所述硅胶培养室进行拉伸,使所述硅胶培养室内壁形成利于细胞均匀接种的平面,当培养室内充满培养液时,由于存在水压室的外部压力,细胞培养基底平面不至于因硅胶袋弹性而凹陷或凸出,利于细胞的均匀接种;

所述硅胶培养室还通过外接管路与所述水压室的溶液水嘴连接,当细胞粘附于硅胶培养室的内壁生长后,通过溶液水嘴向所述硅胶培养室灌注培养液,对硅胶培养室内的细胞施加流体剪切作用,从而可实现对细胞的拉伸和剪切复合力学加载;

所述夹具包括:上夹板、下夹板和连接件,所述上夹板、下夹板和连接件通过螺钉固定;

所述拉杆经所述水压室的拉杆通道穿出,延伸至所述水压室的外侧;所述拉杆通道外侧设置由第一硅胶波纹管,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拉杆上;

所述拉杆位于所述水压室外侧的一端上还设有第二硅胶波纹管,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所述的系统,其特征在于,所述水压室内还设有用于避免硅胶培养室内培养液产生气泡的水套。

一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统

技术领域

[0001] 本发明实施例涉及生物技术领域,尤其涉及一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统。

背景技术

[0002] 进行细胞生物力学实验研究时,经常需要专门的实验装置对培养的细胞进行实时静态或动态力学加载,并且需要对细胞生长的力学微环境进行规范和量化。对细胞施加基底拉伸或流体剪切是两种常见的细胞力学加载方式。目前已有商业化的基底拉伸加载装置,以及流动腔式流动剪切加载装置等。

[0003] 为了模拟体内复杂力学环境,对细胞进行多种力学条件的复合加载是进一步的实验研究需求,如基底拉伸和流体剪切的复合加载实验。由于稳定的、定量控制的流体剪切加载需要压力驱动,因此需要刚性的液密容器。而基底拉伸加载则需要弹性可变形基底,多使用敞口带盖的非密封容器,内部装载基底膜拉伸结构,或将培养皿底部更换为弹性基底膜,利用负压抽吸使其变形。

[0004] 为了实现基底拉伸和流体剪切的复合加载,有利用硅胶管类材料,在其中培养细胞并灌注培养液施加流体剪切,同时进行轴向拉伸的实验方法。其优点是结构相对简单,可利用弹性容器壁直接作为培养基底。但其培养面积有限,由于是非平面基底,不利于细胞均匀接种和显微观察。也有利用牵拉PDMS硅胶制作的微流道达到复合加载目的的装置,但微流道装置不能满足大量细胞培养的需求。虽然硅胶生物相容性极好,使用较大的硅胶类弹性培养容器,还需要解决如下问题:灌注培养液时的驱动压力可使硅胶培养容器膨胀变形,流道截面因而发生变化,使流动剪切水平难以稳定控制。硅胶的透气性很好,进行长时间的细胞培养,培养液可透过硅胶容器壁蒸发使培养腔内产生气泡。气泡的产生一方面进一步干扰流动剪切的控制,另一方面对细胞的营养供应不利,随溶液流动的气泡还可能对细胞造成损伤。此外,动态的加载(如周期性往复拉伸、持续灌注等),为精确控制和降低人力操作成本,系统一般需要采用自动控制和原位在线显微观测的操作方式。目前还没有能够综合解决上述问题的细胞基底拉伸和流体剪切复合加载实验装置。

发明内容

[0005] 本发明实施例提供了一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统,可以满足大多数实验对细胞量的需求同时,进行细胞基底拉伸和流动剪切复合加载的定量控制,便于自动操作,可防止培养室产生气泡,具备在线显微观察性能,并且由于全系统液密便于整体灭菌,在动态加载实验中具有防止污染的高可靠性。

[0006] 本申请实施例提供的一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统,包括:硅胶培养室,以及对置于所述硅胶培养室两侧的夹具以及拉杆,其中所述硅胶培养室和夹具均设置于水压室内;

[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杆与所述夹具连接,且通

过所述夹具与所述拉杆连接,通过所述电机控制所述拉杆对所述硅胶培养室进行拉伸,使所述硅胶培养室内壁形成利于细胞均匀接种的平面;

[0008] 所述硅胶培养室还通过外接管路与所述水压室的溶液水嘴连接,当细胞粘附于硅胶培养室的内壁生长后,通过溶液水嘴向所述硅胶培养室灌注培养液,对硅胶培养室内的细胞施加流体剪切作用,从而可实现对细胞的拉伸和剪切复合力学加载。

[0009] 在一个可能的实施方式中,所述夹具包括:上夹板、下夹板和连接件,所述上夹板、下夹板和连接件通过螺钉固定。

[0010] 在一个可能的实施方式中,所述拉杆经所述水压室的拉杆通道穿出,延伸至所述水压室的外侧;

[0011] 所述拉杆通道内侧设置第一硅胶波纹管,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拉杆上。

[0012] 在一个可能的实施方式中,所述拉杆位于所述水压室外侧的一端上还设有第二硅胶波纹管,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。

[0013] 在一个可能的实施方式中,所述水压室内还设有用于避免硅胶培养室内培养液产生气泡的水套。

[0014] 本发明实施例提供一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统,具有如下有益效果:能够实现对常规培养数量细胞的基底进行拉伸和流动剪切复合加载,并能够定量控制加载参数,自动化操作。利用电机带动驱动机构拉动两端拉杆,通过编程设定拉伸变形比例、拉伸速度、往复拉伸频率,即可实现定量控制的静态或动态拉伸。利用蠕动泵驱动培养液,通过设定蠕动泵流量即可实现定量控制的流动剪切。通过编程设定分别设定基底拉伸和流动剪切的作用时间即可进行不同复合加载方式的组合。

附图说明

[0015] 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。

[0016] 图1为本申请实施例提供一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统的结构示意图;

[0017] 图2为本申请实施例提供一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统的正视图;

[0018] 图3为本申请实施例提供的硅胶培养室结构示意图;

[0019] 图4为本申请实施例提供的夹具结构示意图。

具体实施方式

[0020] 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。

[0021] 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。

[0022] 图1为本申请实施例提供的一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统的结构示意图,如图1所示,本实施例提供一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统,包括:硅胶培养室1,以及对置于硅胶培养室1两侧的夹具3以及拉杆4,其中硅胶培养室1和夹具3均设置于水压室5内;

[0023] 其中,硅胶培养室1是一个约长42mm,宽30mm,高3mm的柔性容器,壁厚约0.2mm,容积约3.8ml,其内部一侧底面有效细胞培养面积约 12.5cm^2 。其培养面积相当于常规T25细胞培养瓶面积的一半,可以满足大部分实验对细胞量的需求。水压室包括:水压室盖10和水压室本体,水压室盖10与水压室本体之间利用锁紧部件12压紧,且二者之间的胶垫11进行密封。

[0024] 图3为本申请实施例提供的夹具结构示意图,如图3所示,夹具3包括:上夹板3a、下夹板3b和连接件3c,上夹板3a、下夹板3b和连接件3c通过螺钉固定。

[0025] 本实施例中的硅胶培养室1通过设置于硅胶培养室1内部的支撑杆2与夹具3连接,且通过夹具3与拉杆4的一端连接,拉杆4的另一端与电机连接,通过电机控制拉杆4对硅胶培养室1进行拉伸,使硅胶培养室1内壁形成利于细胞均匀接种的平面。

[0026] 需要说明的是,硅胶培养室1被两端拉杆4绷紧使其内壁(细胞培养基底)形成一个平面,当培养室内充满培养液时,由于存在水压室的外部压力,细胞培养基底平面不至于因硅胶袋弹性而凹陷或凸出,利于细胞的均匀接种。

[0027] 另外,硅胶培养容器使用透明硅胶材料,水压室使用透明聚碳酸酯材料。因培养基底紧贴水压室盖(见图2纵剖面图),培养基底平面距离水压室盖外部小于3mm,满足长焦40倍以下物镜的观测需求。由于硅胶培养室被两端拉杆绷紧使其内壁形成一个平面,除了利于细胞的均匀接种,当培养室内充满培养液时,水压室产生的水压使培养室的细胞接种平面不至于因硅胶弹性和培养液的重量而凹陷,从而利于显微观察。

[0028] 图4为本申请实施例提供的硅胶培养室结构示意图,如图4所示,硅胶培养室1还通过外接管路7与水压室5的溶液水嘴8连接,当细胞粘附于硅胶培养室1的内壁生长后,通过溶液水嘴8向硅胶培养室1灌注培养液,对硅胶培养室1内的细胞施加流体剪切作用,从而可实现对细胞的拉伸和剪切复合力学加载。

[0029] 需要说明的是,通过水压室水嘴14可将水压室5内部充满水,硅胶培养室1浸于水中。硅胶培养室1进出口外接管路7与水压室5的进出口溶液水嘴8连接,形成一个独立于水压室水套且密封的溶液通道。细胞悬液可以通过溶液水嘴8注入硅胶培养室1进行细胞接种。当细胞粘附于硅胶培养室1内壁,拉动两端拉杆4,即可对硅胶培养室1这一密闭细胞培养系统施加基底拉伸变形。最大变形幅度可达50%。细胞粘附于袋壁生长后,可以利用蠕动泵通过进出口溶液水嘴8连续或循环灌注培养液,对培养室内的细胞施加流体剪切作用,剪切力的作用范围可通过蠕动泵流量控制,从而可实现对细胞的拉伸和剪切复合力学加载。

[0030] 通过上述结构,可确保动态加载过程中流体剪切参数设置的准确性。因需要进行

基底拉伸而使用具有生物相容性的硅胶柔性培养容器,但柔性容器在压力驱动培养液灌注时会变形,不利于流体剪切参数的准确设置,利用水压室内的水压力,一方面防止培养液灌注时柔性培养容器的变形,保障了制流体剪切水平的定量控制,另一方面也可以避免硅胶培养室内培养液通过透气性良好的硅胶材料蒸发产生气泡,影响细胞生长和流体动力学参数控制。

[0031] 硅胶培养室及其管路作为全密闭的溶液系统,在保证上述基底加载和流体动力学参数控制的同时,全系统可以安装后整体灭菌,接种细胞后系统全密闭,排除了污染的风险,尤其适合于自动化操作。

[0032] 需要注意的是,拉杆4经水压室5的拉杆通道9穿出,延伸至水压室5的外侧;拉杆通道9内侧设置有第一硅胶波纹管16,第一硅胶波纹管16一端固定于拉杆通道9上,第一硅胶波纹管16的另一端固定于拉杆4上。拉杆4位于水压室5外侧的一端上还设有第二硅胶波纹管6,当第一硅胶波纹管16处于拉伸状态时,第二硅胶波纹管6处于压缩状态,从而以双重密封确保水压室密封的可靠性。

[0033] 另外,本实施例的水压室5内还设有用于避免硅胶培养室内培养液产生气泡的水套。

[0034] 以下为本实施例提供的一种全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统的安装流程:

[0035] 首先,将两个内部支撑杆2分置于硅胶培养室1内部两端,每端用夹具3夹住并用螺钉紧固。将硅胶培养室1和夹具3的组合置于水压室5中间,将硅胶培养室1的进出口外接管路7与水压室5的进出口溶液水嘴8连接。

[0036] 将拉杆4从水压室5的拉杆通道9穿入,并在穿入水压室5的拉杆4一端套上第一硅胶波纹管16和第一组O型圈17,先将拉杆4通过螺纹旋紧在夹具3的拉杆连接3c上,再用O型圈17把硅胶波纹管16两端分别套紧在拉杆4和拉杆通道9上。然后将拉杆4露在水压室5外面的部分套上第二波纹管6和第二组O型圈13,用O型圈13把硅胶波纹管6两端分别套紧在拉杆4和拉杆通道9上。

[0037] 两端的拉杆4和硅胶波纹管6安装好后,在水压室5上面铺好胶垫11,盖上水压室盖10,利用锁紧部件12将水压室盖10和胶垫11压紧使其密封。

[0038] 将安装好的系统整体进行灭菌处理。灭菌后置于超净工作台操作。将配制好的基底蛋白溶液用注射器从溶液水嘴8注入到硅胶培养室1内,孵育后吸出多余的溶液。再用一个注射器将配制好的细胞悬液约4ml从溶液水嘴8注入到硅胶培养室1内,排空硅胶培养室1和进出口外接管路7内的气泡,将进出口封堵后,整套装置放入二氧化碳孵箱中12小时以上待细胞在基底上贴壁生长。

[0039] 细胞贴壁后在超净工作台内将进出口溶液水嘴8与培养液灌注系统连接,再将两侧拉杆与驱动机构连接,即可按设定程序开始实验。

[0040] 本发明实施例提供的全密闭细胞基底拉伸和流动剪切复合加载实验系统,由于全系统液密便于整体灭菌,在细胞接种后自动化操作,执行部件(电机、蠕动泵等)全程不接触培养液,因而在动态加载实验中具有防止污染的高可靠性。此外,系统满足保持柔性培养室形状稳定性,确保力学加载参数定量控制和便于显微观察,以及防止培养室产生气泡的功能需求。

[0041] 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。

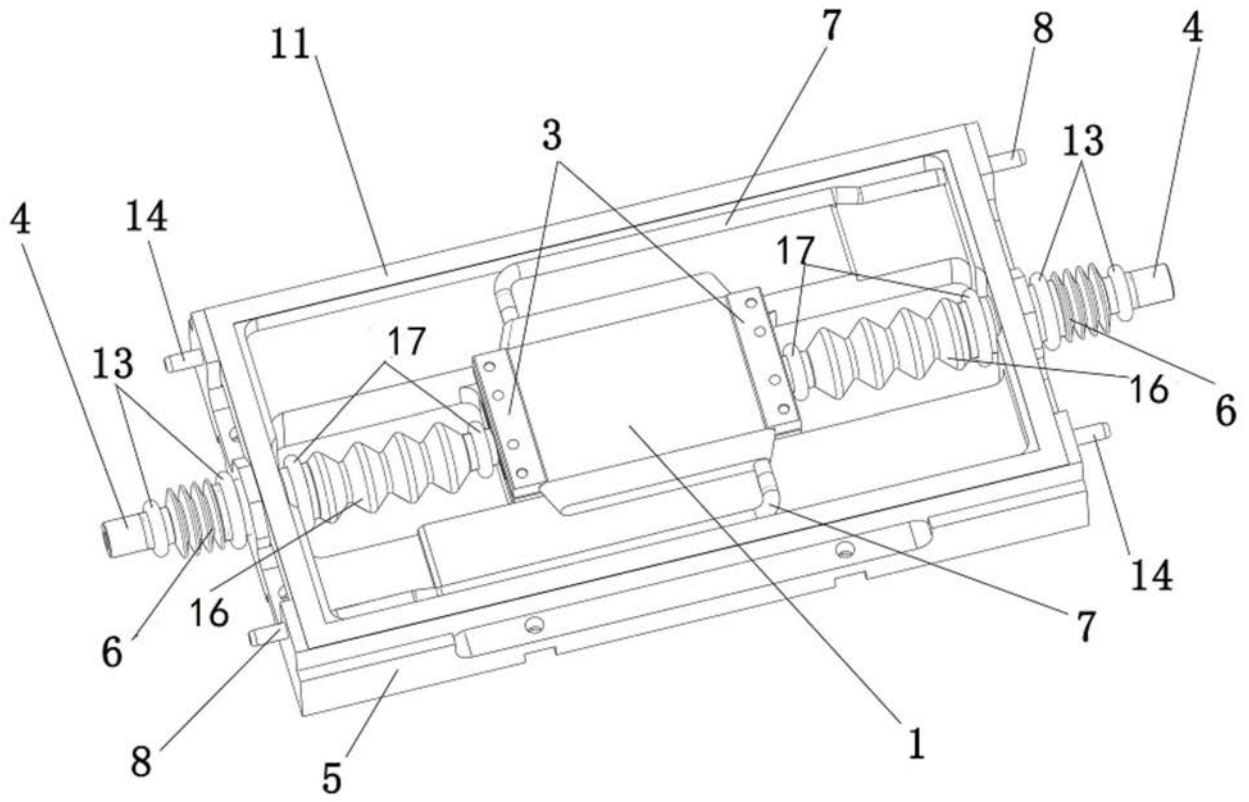


图1

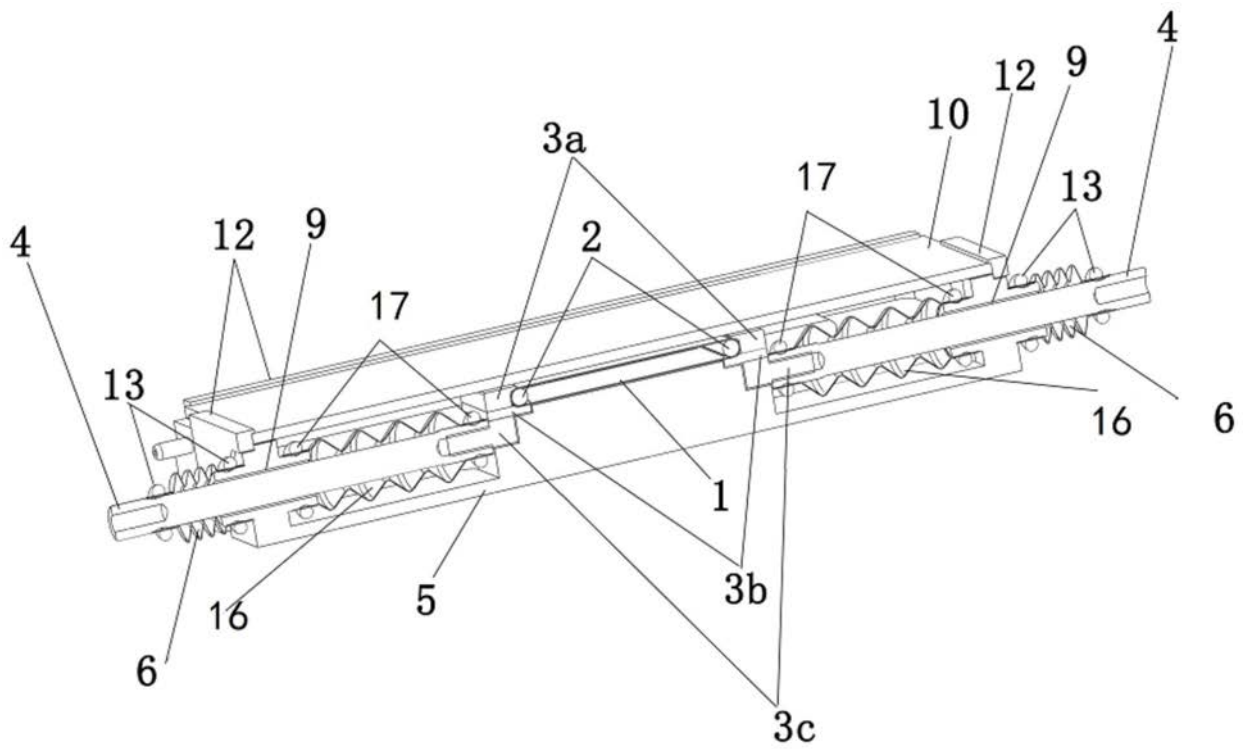


图2

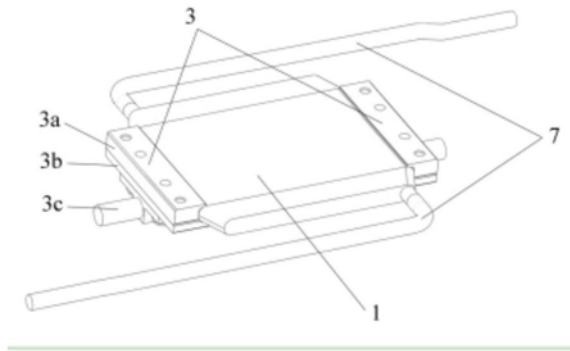


图3

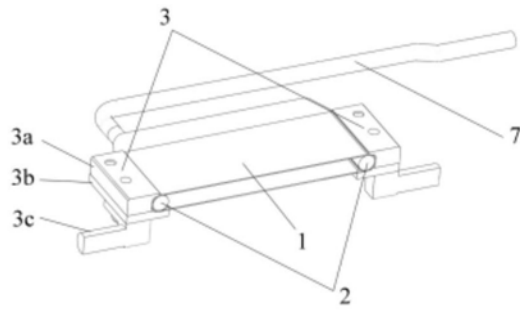


图4