



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102329729 B

(45) 授权公告日 2013. 05. 29

(21) 申请号 201110302293. 5

CN 1234440 A, 1999. 11. 10,

(22) 申请日 2011. 10. 08

CN 1542122 A, 2004. 11. 03,

(73) 专利权人 中国科学院力学研究所

张蕊等. 水平旋转生物反应器的微重力环境
分析. 《技术与市场》. 2009, 第 16 卷 (第 7 期),

地址 100190 北京市海淀区北四环西路 15
号

审查员 武莎

(72) 发明人 龙勉 孙树津 高宇欣 李展
陈娟

(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 3/02 (2006. 01)

C12M 1/34 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1834718 A, 2006. 09. 20,

CN 1834718 A, 2006. 09. 20,

CN 1290743 A, 2001. 04. 11,

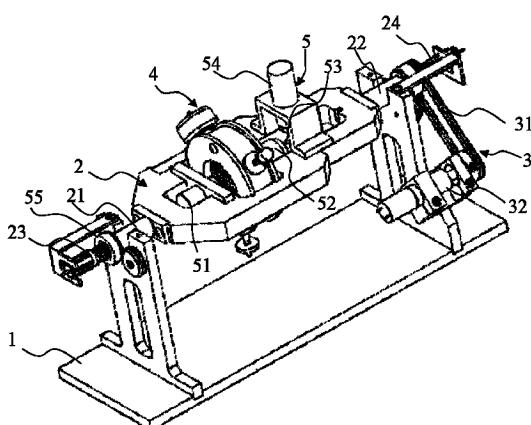
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

一种用于悬浮细胞微重力效应模拟的培养系
统

(57) 摘要

本发明公开了一种用于悬浮细胞微重力效应
模拟的培养系统,包括:底座;旋转支架,可转动
安装在所述底座上;驱动旋转部,设置在所述底
座上,用于驱动所述旋转支架按照预定的旋转速
度进行旋转;培养器,设置在所述旋转支架上,具
有容纳细胞培养液的腔体;观测部,设置在所述
旋转支架上,用于在线观测悬浮于所述培养器中
培养液中的细胞的状态。本发明通过在旋转支架
上设置观测部,当将旋转支架按照预定的旋转速
度旋转的时候,可在线观测模拟微重力的效应下,
盛在培养器内的悬浮于培养液的细胞的状态,从
而实现在线观测。



1. 一种用于悬浮细胞微重力效应模拟的培养系统，其特征在于，包括：
底座；
旋转支架，可转动安装在所述底座上；
驱动旋转部，设置在所述底座上，用于驱动所述旋转支架按照预定的旋转速度进行旋转；
培养器，设置在所述旋转支架上，具有容纳细胞培养液的腔体；
第一开口，设置在所述培养器上，在该第一开口上设置有第一透气膜和将所述第一透气膜压靠住的具有透气孔的第一透明端盖；
第二开口，设置在所述培养器上，并与所述第一开口相对向，在该第二开口上设置有第二透气膜和将所述第二透气膜压靠住的具有透气孔的透明的第二透明端盖；
观测部，设置在所述旋转支架上，用于在线观测悬浮于所述培养器中培养液中的细胞的状态；所述观测部进一步包括光源和显微镜，光源设置在所述旋转支架上，从所述第一开口向所述培养液照射光线；显微镜设置在所述旋转支架上，用于从所述第二开口观测悬浮于所述培养液中的细胞的状态；
所述培养器上还设置有用于进样取样及气泡排除的第一溶液进出口、用于在线换液的第二溶液进出口和第三溶液进出口，所述第二溶液进出口上安装有单向阀，所述第三溶液进出口上设置有滤器；在所述培养器上还设置有与所述培养器同轴旋转的第一旋转密封接头和第二旋转密封接头，所述第一旋转密封接头的一端通过软管与所述单向阀相连，另一端与蠕动泵管相连；所述第二旋转密封接头的一端通过软管与所述滤器相连，另一端和废液接收袋相连。
2. 如权利要求 1 所述的系统，其特征在于，所述光源为 LED 光源。
3. 如权利要求 2 所述的系统，其特征在于，在所述旋转支架上还设置有 CCD，用于获取由所述显微镜头观测到的悬浮于所述培养液中的细胞的状态的图像信息，并将该图像信息发送给外接 PC。

一种用于悬浮细胞微重力效应模拟的培养系统

技术领域

[0001] 本发明涉及一种细胞微重力效应模拟研究的实验装置,尤其涉及一种用于悬浮细胞微重力效应模拟的培养系统。

背景技术

[0002] 微重力细胞生物学研究是空间生命科学研究的重要内容和环节。由于进行空间实验代价高昂而且机会稀少,使用地面模拟设备进行实验方案的筛选和一些对照研究必不可少。

[0003] 利用旋转培养器进行细胞微重力效应的模拟是一种可以在普通实验室内实施的重要研究方法。旋转培养器的基本原理是通过培养器以特定速度绕水平轴的旋转,使细胞所感受的重力在一个旋转周期内矢量和为零,从而产生部分类似微重力条件下的生物学效应。

[0004] 由于旋转培养是一种动态培养,细胞的物质交换和细胞悬液的流体动力学条件与在普通培养器皿内静止培养存在较大区别,因此,如何在实验装置的设计以及实验方法上规范这些差别条件,以分离这些条件所附加的生物学效应与所模拟的微重力效应,是利用旋转培养器进行细胞微重力效应模拟研究的重要前提。

[0005] 现有的旋转培养器多不能够在线换液,换液操作需要停止旋转,这必然对微重力效应的模拟产生干扰,因而限制了这类旋转培养器的应用(只能用于不须换液的短周期实验)。而一些具有在线灌注功能的旋转培养器只利用了连续灌注可以促进培养器内物质交换的特点,灌注产生的流动剪切仍将显著干扰微重力效应的模拟。由于细胞微重力效应模拟实验是一类对力学条件十分敏感的实验,务须减少其它力学因素的干扰。

[0006] 此外,为了监测实验过程中细胞在培养器内的悬浮状态以及细胞的生长形态,旋转培养系统有在线观测的需求,但目前还没有可以在线观测的培养器。

发明内容

[0007] 针对现有技术存在的问题,本发明的目的在于提供一种用于悬浮细胞微重力效应模拟的培养系统,可以实现在线换液、换气以及在线观测。

[0008] 本发明的一种用于悬浮细胞微重力效应模拟的培养系统包括:

[0009] 底座;

[0010] 旋转支架,可转动安装在所述底座上;

[0011] 驱动旋转部,设置在所述底座上,用于驱动所述旋转支架按照预定的旋转速度进行旋转;

[0012] 培养器,设置在所述旋转支架上,具有容纳细胞培养液的腔体;

[0013] 观测部,设置在所述旋转支架上,用于在线观测悬浮于所述培养器中培养液中的细胞的状态。

[0014] 优选地,还包括:

[0015] 第一开口，设置在所述培养器上，在该第一开口上设置有第一透气膜和将所述第一透气膜压靠住的具有透气孔的透明的第一透明端盖；

[0016] 第二开口，设置在所述培养器上，并与所述第一开口相对向，在该第二开口上设置有第二透气膜和将所述第二透气膜压靠住的具有透气孔的透明的第二透明端盖。

[0017] 优选地，所述观测部包括：

[0018] 光源，设置在所述旋转支架上，从所述第一开口向所述培养液照射光线；

[0019] 显微镜，设置在所述旋转支架上，用于观测悬浮于所述培养液中的细胞的状态。

[0020] 优选地，所述光源为 LED 光源。

[0021] 优选地，在所述旋转支架上还设置有 CCD，用于获取由所述显微镜头观测到的悬浮于所述培养液中的细胞的状态的图像信息，并将该图像信息发送给外接 PC。

[0022] 优选地，所述培养器上还设置有用于进样取样及气泡排除的第一溶液进出口、用于在线换液的第二溶液进出口和第三溶液进出口，所述第二溶液进出口上安装有单向阀，所述第三溶液进出口上设置有滤器；在所述培养器上还设置有与所述培养器同轴旋转的第一旋转密封接头和第二旋转密封接头，所述第一旋转密封接头的一端通过软管与所述单向阀相连，另一端与蠕动泵管相连；所述第二旋转密封接头的一端通过软管与所述滤器相连，另一端和废液接收袋相连。

[0023] 本发明通过在旋转支架上设置观测部，当将旋转支架按照预定的旋转速度旋转的时候，可在线观测模拟微重力的效应下，盛在培养器内的悬浮于培养液的细胞的状态，从而实现在线观测。

附图说明

[0024] 图 1 细胞微重力效应模拟培养系统的结构示意图；

[0025] 图 2 培养器的结构示意图。

具体实施方式

[0026] 如图 1、2 所示，本发明包括：底座 1、旋转支架 2、驱动旋转部 3、培养器 4 和观测部 5。旋转支架 2 的两端分别通过第一空心轴 21 和第二空心轴 22 可转动安装在底座 1 上，在第一空心轴 21 的端部安装有与旋转支架 2 同轴旋转的第一旋转密封接头 23，在第二空心轴 22 的端部安装有与旋转支架 2 同轴旋转的第二旋转密封接头 24。驱动旋转部 3 安装在底座 1 上，用于驱动旋转支架 2 按照预定的旋转速度进行旋转。培养器 4 设置在旋转支架 2 上，具有容纳细胞培养液的腔体。本发明实施例的培养器 4 为扁圆筒状，培养器 4 的一个端面上设置有第一开口 41，在第一开口上设置有第一透气膜 42 和将第一透气膜 42 压靠住的具有透气孔的透明的第一透明端盖 43；培养器 4 的另一个端面上设置有与第一开口 41 相对向的第二开口 44，在第二开口 44 上设置有第二透气膜 45 和将第二透气膜 45 压靠住的具有透气孔的透明的第二透明端盖 46。观测部 5 设置在旋转支架 2 上，用于在线观测悬浮于培养液中的细胞的状态。

[0027] 本发明实施例的培养器 4 的容积根据实验需要可在 5ml~20ml 之间选择。培养器 4 在圆柱壁面上还分布有三个溶液进出口，分别是第一溶液进出口 47、第二溶液进出口 48 和第三溶液进出口 49。第一溶液进出口 47 用于进样取样及气泡排除，第二溶液进出口 48、

49 用于在线换液。在第一溶液进出口 47 上设置有旋帽 471，第二溶液进出口 48 上安装有单向阀 481，第三溶液进出口 49 上安装有滤器 491，用于阻止细胞从培养器 4 中流出。在单向阀 481 和滤器 491 上分别安装有软管，连接单向阀 481 的软管通过第一空心轴 21 与第一旋转密封接头 23 的一端相连，第一旋转密封接头 23 的另一端与蠕动泵管连接。连接滤器 491 的软管通过第二空心轴 22 与第二旋转密封接头 24 的一端相连，第二旋转密封接头 24 的另一端与废液收集袋相连，用于收集废液。

[0028] 本发明实施例的观测部 5 具体包括：LED 光源 51、显微镜 52 和 CCD54，LED 光源 51 设置在旋转支架 2 上，并从第一开口 41 向培养液照射光线。显微镜 52 设置在旋转支架 2 上，用于观测悬浮于培养液中的细胞的状态。CCD54 设置在旋转支架 2 上，用于获取由显微镜 52 观测到的悬浮于培养液中的细胞的状态的图像信息，并该图像信息发送给外接 PC。CCD54 输出的图像信号经集电滑环 55 引出的信号线可以连接在外接 PC 上，同时可以将图像存储起来。显微镜 52 的显微镜头最高可以使用 20 倍物镜。显微镜头也可以前后移动调节。如果 CCD54 拍摄的方向与显微镜 52 观测的方向相垂直的话，还可以在显微镜 52 与 CCD54 之间设置一个折射镜 53。

[0029] 本发明利用转筒式旋转培养器 4 进行细胞微重力效应模拟实验，解决好了三个相互关联的问题：

[0030] 一是维持细胞的受力状态相对稳定，即令细胞处于一个相对稳定的悬浮状态，随培养器 4 旋转，尽可能降低沉降速率，降低流动剪切。在本发明装置中，对于悬浮培养的细胞，采用 8-10rpm 的恒定转速实现上述要求，此时对细胞的剪切理论上小于 10^{-5}N/m^2 。

[0031] 二是降低换液操作对细胞受力状态的干扰。进行细胞微重力效应模拟实验时，中断旋转，将培养器 4 取下进行换液的操作时间很难控制在分钟量级，而进行持续的循环灌注则会干扰细胞的悬浮状态，两种办法都会显著干扰微重力效应的模拟。在本发明装置中，通过短时在线换液的方式解决这一问题，即在培养器 4 旋转过程中通过蠕动泵和旋转密封接头在线换液，换液时间控制在数分钟内，可确保 85% 以上的培养液被更新。换液所产生的流动剪切低于 0.05N/m^2 ，该数值低于手工换液产生的短时流动剪切干扰。

[0032] 三是提供充分的气体交换措施。因培养器 4 是液体密闭系统，在本发明装置中，利用培养器 4 两个端面的透气膜进行气体交换。本发明装置是基于常规二氧化碳孵箱环境的，因此培养器 4 内的细胞培养液一方面因细胞耗氧而对培养液有溶氧需求，一方面培养液需利用二氧化碳对溶液 pH 值进行缓冲以维持 pH 值稳定。通过培养器 4 两端的透气膜进行气体交换可以满足设计厚度的培养容积对气体的需求，同时不会对培养液产生额外的扰动。

[0033] 本发明系统的安装与细胞接种：

[0034] 如图 1 所示，首先将培养器 4 安装在旋转支架 2 上。使用硅胶软管连接培养器 4 进口单向阀 481，软管另一端从第一空心轴 21 内穿入与第一旋转密封接头 23 连接，第一旋转密封接头 23 则与蠕动泵软管连接，蠕动泵软管的另一端连接盛放培养液的储液瓶；使用另一根软管连接培养器出口滤器 491，软管另一端从第二空心轴 22 内穿入与第二旋转密封接头 24 连接，第二旋转密封接头 24 则通过一段软管与废液收集袋连接。

[0035] 将上述连接好管路的旋转支架 2 及培养器系统经高压灭菌之后，安放在底座上 1，在一端第一旋转密封接头 23 上套装集电滑环 55，另一端第二空心轴 22 上套装传动皮带

31。即可经培养器 4 的进样 / 取样口注入细胞悬液并排除气泡。然后将 LED 光源以及显微镜头、折射镜及 CCD 系统安装在旋转支架 2 上，并将电源线与信号线连接在集电滑环 55 上，调好焦距。

[0036] 将整个实验系统放于二氧化碳孵箱内，并将电源及信号线从孵箱门引出，以孵箱门的密封胶垫压住并关闭孵箱门。启动电机 32 令旋转支架 2 以设定的转速(8-10rpm)旋转。微重力效应模拟实验过程即开始。

[0037] 在线换液与观测：

[0038] 换液前，需提前向储液瓶内注入新鲜培养液。储液瓶的瓶盖安装有一根穿过瓶盖的管子，管子在瓶内接触瓶底，在瓶外与蠕动泵软管连接。瓶盖与瓶子不旋紧以使孵箱内气体与瓶内相通，使注入的培养液的 pH 值得到缓冲。一般在向储液瓶内注入培养液一小时后即可进行换液操作。换液时开启蠕动泵以设定的工作时间(换液时间随培养器容积的增加而增加，但均不超过 5 分钟)和流量工作即可。

[0039] 需要观测培养器内细胞的状况时，将信号线连接到电脑上，通过软件手工截取图像即可。也可使用专为实验系统开发的控制器，自动获取和存储图像。

[0040] 应用范围

[0041] 本实验系统主要用于进行悬浮培养细胞的微重力效应模拟实验，也可拓展到使用微载体培养贴壁细胞或微组织块培养。

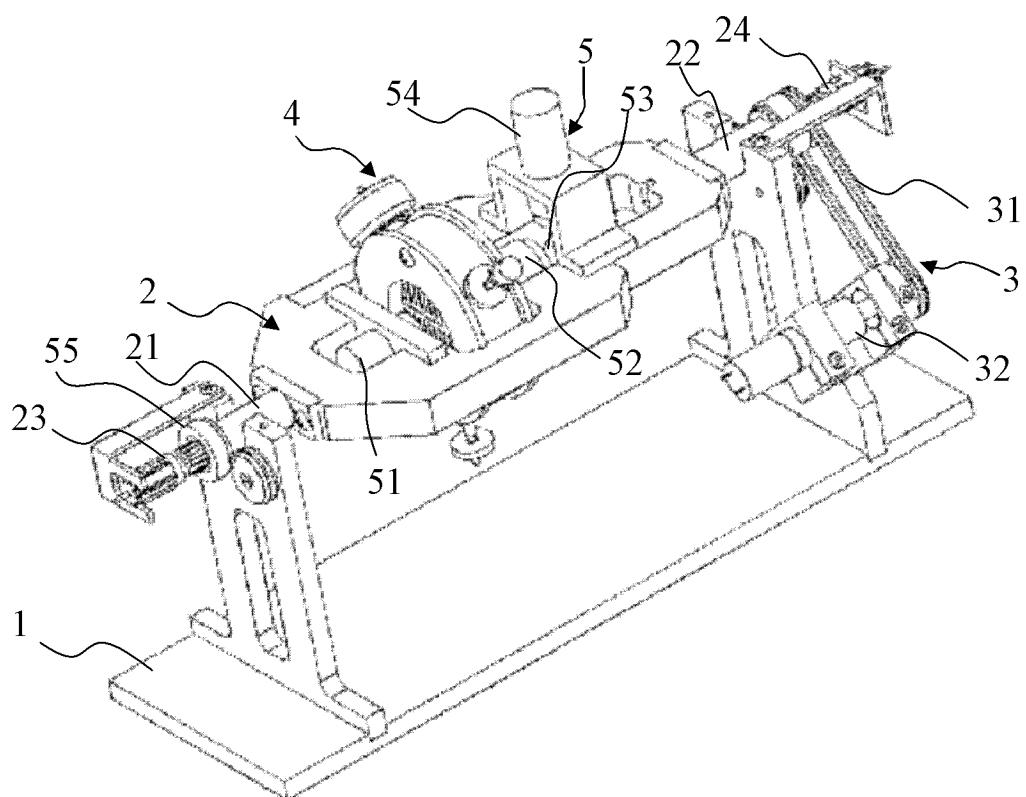


图 1

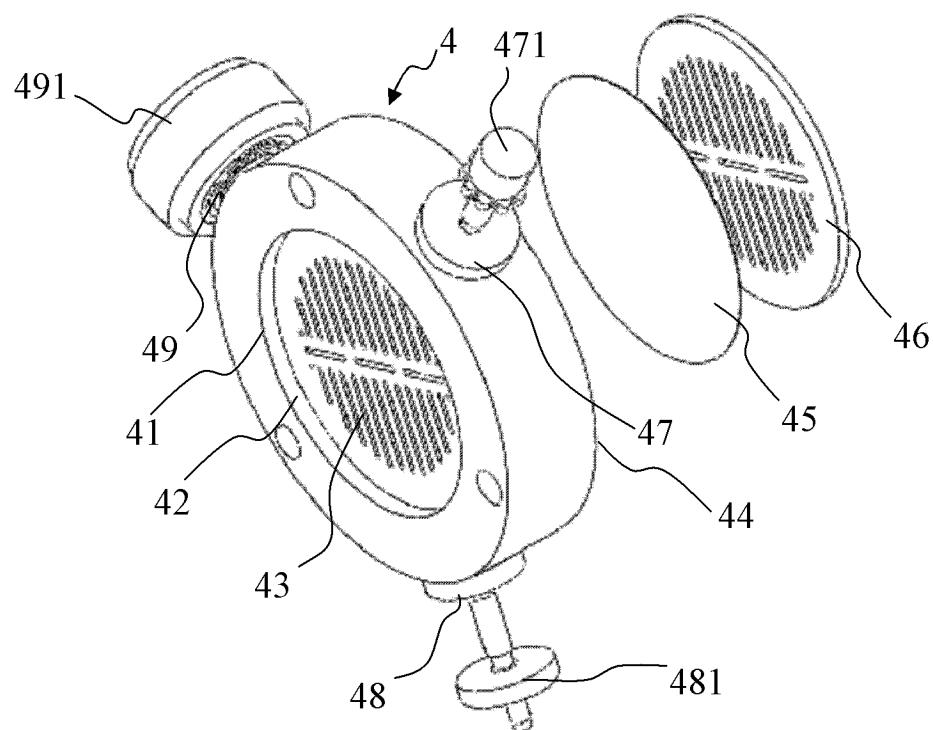


图 2