

整合性自动化细胞培养装置

技术领域

本发明是有关于一种细胞培养装置，特别是有关于一种全功能整合性的自动化细胞培养装置。

背景技术

今日许多癌症的治疗，除了传统的化学药物、放射线治疗或手术切除之外，亦可能利用基因治疗或细胞治疗，以避免严重的副作用。以细胞治疗来说，由于病患自身的免疫细胞不会造成排斥现象，相较他人提供的免疫细胞较能有效打击癌细胞，同时可减轻病患身体负担。

而为了进行细胞治疗，则必须将自体细胞或异体细胞进行体外培养，使之增殖后再注射至病患体内，而细胞的培养，通常于软性的培养袋内进行，随着细胞增殖数量的增多，渐渐注入新的培养液，并将培养液置于特定温度与湿度的实验室环境内。

其中，为了确认细胞培养情形，需对培养液进行观测，甚至需要多次以人工抽取少量袋内培养液以计算细胞数量，再根据细胞数量注入对应量的培养液，在整个细胞培养的流程中，须人工进行多次观测及计算细胞数量的步骤，十分耗费人力成本，且有细胞污染的风险及人为操作的差异，质量较不稳定。

正因如此，细胞培养无法达到全自动培养流程，使得培养成本高昂，一般病患难以负荷其花费。

发明内容

本发明的主要目的是在于提供一种整合性自动化细胞培养装置，以整合性的设备对培养袋进行侦测与培养操作，提高细胞培养的自动化程度。

本发明的另一目的是在于提供一种整合性自动化细胞培养装置，易于监测培养袋中的细胞密度，但无须取出培养液进行计算，可避免影响培养环境，又能较为快速地得知细胞密度。

为能达成上述目的，本发明提供一种整合性自动化细胞培养装置，包含一本体、一盖体、一塞座、一供气模块、至少一滑轨部与一夹袋件。

该本体内围构一培养室，该本体的顶部具有与该培养室连通的一开口，该本体

的侧面另具有与该培养室连通的一容纳槽，该培养室的底部供承置一培养袋；该盖体可拆地盖设于该本体的该开口上，以封闭该培养室；该塞座供塞设于该容纳槽，该塞座穿设至少一穿孔，该至少一穿孔供至少一管路穿过而穿伸于该培养室与外界之间，该至少一管路的一端供连接至该培养袋；该供气模块包含一二氧化碳传感器与一供气连接器，该二氧化碳传感器设于该培养室内，该二氧化碳传感器电连接于该供气连接器，该供气连接器设于该本体而供外界的气体源连接，以对该培养室内供给气体；该温控模块设于该本体与该盖体的至少其中一者，包含一加热器与一温度传感器，该温度传感器电连接于该加热器，该温度传感器供感测该培养室内的温度并驱使该加热器选择性地对该培养室加热；该至少一滑轨部设于该培养室内而沿一滑动方向延伸，该夹袋件可滑动地设于该至少一滑轨部并供压抵该培养袋，以防止该培养袋内的液体流至该培养袋的其中一侧，该夹袋件能于该培养袋上滑动。较佳地，更包含至少一拉撑机构，该至少一拉撑机构至少设于该培养室的一端，以供夹掣该培养袋的一端。

较佳地，所述的装置更包含一光照计数模块，该光照计数模块包含一光源与一光接收器，该光源设于该培养室与该盖体朝向该培养室的一面的其中一者，该光接收器设于该培养室与该盖体朝向该培养室的一面的其中另一者，使该培养袋承置于该培养室内时位于该光源与该光接收器之间，该光源供朝该光接收器发射波长 400 至 600 纳米的光线、波长 400 至 500 纳米的光线或波长 400 纳米的光线，该光线穿过该培养袋后被该光接收器所接收并借以计算该培养袋内液体的吸光值，进而计算该培养袋内所含的细胞密度。

在某些情况下，该培养袋具有横向朝外延伸的观测部，该培养袋内的液体与细胞可以自由通透进出该观测部，该光源与该光接收器的位置对应于该观测部，使该光源发出的光线经由该观测部穿过该培养袋。

在某些情况下，该盖体中央开设一观察窗，该观察窗盖设一加热玻璃，该加热玻璃背向该培养室的一侧另盖设一可掀的掀盖，该掀盖选择性地自外遮蔽该加热玻璃，该加热玻璃即该加热器，该温度传感器设于该盖体面向该培养室的一面。

在某些情况下，该供气模块与该塞座分别设于该培养室的相对两端。

在某些情况下，所述的装置更包含一透气支架，该透气支架置于该培养室的底部，以供承置该培养袋；较佳地，该透气支架穿设复数镂空部，使该培养袋的底部易于透气。

在某些情况下，更包含一保冷箱与一帮浦，该保冷箱设于该本体内而供容纳至

少一培养液容器，该帮浦亦设于该本体，该至少一管路由该帮浦连接至该至少一培养液容器，借以对该培养袋内供给液体。

借此，可在不介入细胞培养环境的前提下，快速测得培养室内的环境，并对此环境进行人工或自动化操作，更进一步地，也能借由光照计数模块测知培养袋内的细胞密度，借以判断细胞生长状况，以作为调控培养液、气体、温度、湿度等生长条件的参考依据，进而能达成稳定的自动化细胞培养。

附图说明

图 1 与图 2 是本发明的整合性自动化细胞培养装置的立体图。
图 3 是本发明的整合性自动化细胞培养装置的立体分解图。
图 4 是本发明的整合性自动化细胞培养装置的部分剖面图。
图 5 是本发明的整合性自动化细胞培养装置的前视图。
图 6 是本发明第一实施例的光源波长与吸亮度的关系图。
图 7 是本发明第一实施例中在 290 纳米光源照射下吸亮度与细胞密度的关系图。
图 8 是本发明第二实施例的光源波长与吸亮度的关系图。
图 9 是本发明第二实施例中在 290 纳米光源照射下吸亮度与细胞密度的关系图。
图 10 是本发明第三实施例的光源波长与吸亮度的关系图。
图 11 是本发明第三实施例中在 290 纳米光源照射下吸亮度与细胞密度的关系图。
图 12 是本发明第三实施例中在不同波长光源照射下吸亮度与细胞密度的关系图。
图 13 是本发明第三实施例中在不同波长光源照射下吸亮度与细胞密度的关系表。

附图标号说明：

本体 10；培养室 11；容纳槽 12；盖体 20；观察窗 21；加热玻璃 22；掀盖 23；温度传感器 24；塞座 30；穿孔 31；供气模块 40；光源 51；光接收器 52；滑轨部 61；夹袋件 62；拉撑机构 63；透气支架 70；保冷箱 81；帮浦 82；管路 90。

具体实施方式

请参考图 1 至图 5，本发明提供一种整合性自动化细胞培养装置，至少包含一本体 10、一盖体 20、一塞座 30、一供气模块 40、一温控模块、一培养袋定位结构与一光照计数模块，较佳地更可包含一透气支架 70 与一培养液供给机构。

该本体 10 可概呈箱状而其内围构一培养室 11，该本体 10 的顶部具有与该培养室 11 连通的一开口，该本体 10 的侧面另具有与该培养室 11 连通的一容纳槽 12，较佳地，该容纳槽 12 是呈缺口状地形成于该本体 10 的开口旁，该培养室 11 的底部供承置一培养袋，使该培养袋平躺于该培养室 11 的底部。

该盖体 20 可拆地盖设于该本体 10 的该开口上，以封闭该培养室 11，使该培养室 11 内环境恒定而可控制。具体来说，在本实施例中，该盖体 20 周围与该本体 10 的开口周围分别设置位置相对应的扣具，当该盖体 20 盖设于该本体 10 的开口时，该些扣具彼此扣紧而确保培养室 11 与外界不连通。

该塞座 30 供塞设于该容纳槽 12，该塞座 30 穿设至少一穿孔 31，该至少一穿孔 31 供至少一管路 90 穿过而穿伸于该培养室 11 与外界之间，该至少一管路 90 的一端供连接至该培养袋，如此一来，管路可事先安装至该塞座后，再直接将塞座塞入容纳槽内即可，相较于直接于该本体插设管路，塞座的模块化设计能使安装更为简单快速。

该供气模块 40 则包含一二氧化碳传感器与一供气连接器，该二氧化碳传感器设于该培养室 11 内，该二氧化碳传感器电连接于该供气连接器，该供气连接器设于该本体 10 而供外界的气体源连接，以对该培养室 11 内供给气体，较佳地，该供气模块 40 是设于该本体 10 的一侧面。在本实施例中，该供气模块 40 与该塞座 30 是分别设于该培养室 11 的相对两端。

该温控模块设于该本体 10 与该盖体 20 的至少其中一者，包含一加热器与一温度传感器 24，该温度传感器 24 电连接于该加热器，该温度传感器 24 供感测该培养室 11 内的温度并驱使该加热器选择性地对该培养室 11 加热，使该培养室 11 内的温度能恒定地维持于接近于人体体温的适宜培养温度。具体来说，在本实施例中，该加热器为一加热玻璃 22，该盖体 20 中央开设一观察窗 21，其大小对应于培养袋的大小，而该加热玻璃 22 盖设于该观察窗 21，该加热玻璃 22 背向该培养室 11 的一侧另盖设一可掀的掀盖 23，该掀盖 23 选择性地自外遮蔽该加热玻璃 22，以供使用者掀开以观察培养室 11 内部情况，在大部分情况下又能遮蔽外界光线，避免影响细胞培养环境，至于该温度传感器 24，则可设于该盖体 20 面向该培养室 11 的一面，然而，并不以此为限。在其他可能实施例中，可于该培养室的底部设有加热器，自培养袋下方进行加热。

该光照计数模块包含一光源 51 与一光接收器 52，该光源 51 设于该培养室 11 与该盖体 20 朝向该培养室 11 的一面的其中一者（在本实施例中，是设于该盖体 20

朝向该培养室 11 的一面), 该光接收器 52 设于该培养室 11 与该盖体 20 朝向该培养室 11 的一面的其中另一者 (在本实施例中, 是设于该培养室 11), 使该培养袋承置于该培养室 11 内时位于该光源 51 与该光接收器 52 之间, 该光源 51 供朝该光接收器 52 发射波长 400 至 600 纳米的光线、波长 400 至 500 纳米的光线或波长 400 纳米的光线, 该光线穿过该培养袋后被该光接收器 52 所接收并借以计算该培养袋内液体的吸光值, 进而计算该培养袋内所含的细胞密度, 关于吸光值与细胞密度的换算, 将于后续段落详述。

特别要说明的是, 光源与光接收器须设置于光线能穿过培养袋处, 也就是培养袋的上方与下方, 然而, 为了避免光线影响培养袋内大部分细胞的活性与生长, 更可使培养袋具有横向朝外延伸的观测部, 观测部例如是指状或耳状凸出, 培养袋内的液体与其中的细胞可以自由通透进出观测部, 光源与光接收器位置对应于该观测部, 使光线仅穿过该观测部, 以减少对培养袋其他部分的影响。

该培养袋定位结构至少包含至少一滑轨部 61 与一夹袋件 62, 该至少一滑轨部 61 设于该培养室 11 而沿一滑动方向延伸 (举例来说, 滑轨部可直接设于培养室的底面上而与夹袋件直接连结, 或者滑轨部可包括位于培养室底面的光滑面以及设置于培养室下方设置磁铁或电磁铁, 以磁力吸引并带动夹袋件在光滑面上滑动), 该夹袋件 62 可滑动地设于该至少一滑轨部 61 并供压抵该培养袋, 以将该培养袋内的液体集中保持于该培养袋的其中一侧, 该夹袋件 62 能于该培养袋上滑动; 于本实施例中, 该培养袋定位结构包含二该滑轨部 61, 该二滑轨部 61 分别设于该培养室 11 底部的相对两侧并平行延伸, 该夹袋件 62 的两端分别滑设于该二滑轨部 61, 且包含二间隔设置的横杆, 培养袋延伸于该二横杆之间而被该二横杆所夹掣, 当该夹袋件 62 沿该二滑轨部滑动时, 该二横杆于该培养袋上滑移并将培养袋内的液体往一端推动, 使培养袋内的液体集中于培养袋的一侧。

此外, 该培养袋定位结构更可包含至少一拉撑机构 63, 该至少一拉撑机构 63 至少设于该培养室的一端, 并能以可释放的方式固定该培养袋的一端, 如此一来, 可从端部拉着培养袋, 避免夹袋件 62 移动时造成培养袋变形, 具体而言, 拉撑机构 63 例如是夹子, 从端部夹住培养袋并固定, 然而, 拉撑机构也可以配置为勾子或插栓, 可以配合具有对应的勾子或吊挂孔的培养袋使用, 又或者, 拉撑机构可以具有固定柱与磁吸块, 磁吸块以磁性方式吸附于固定柱, 再将培养袋夹持于磁吸块与固定柱之间进行固定。

该透气支架 70 则是可拆地置于该培养室 11 的底部, 以供承置该培养袋, 该透

气支架 70 穿设复数镂空部,使该培养袋的底部易于透气,以确保培养袋顶部与底部的培养环境接近相同。

该培养液供给机构至少包含一保冷箱 81 与一帮浦 82,该保冷箱 81 设于该本体 10 内而供容纳至少一培养液容器,借以低温保存培养液,该帮浦 82 亦设于该本体 10,该至少一管路 90 经由该帮浦 82 连接至该至少一培养液容器,借以对该培养袋内供给低温妥善保存的培养液,且该帮浦 82 可另连接控制机构,自动化控制培养液的供给与否与供给量。

借由上述结构,于培养室内设置装有培养液与细胞的培养袋,并以管路连接之,再以盖体封闭培养室,便能进行自动化细胞培养,重要的是,培养过程中必须进行观测以及细胞密度确认,可在不破坏培养环境的情形下,利用各传感器与光接收器测知,并由吸亮度进行快速的换算而得知,进而可借此调整培养液或气体的供给,或是调整培养室内的温度。

上述结构能够快速获得细胞密度的根据,乃是基于吸亮度与细胞密度的线性关系,对此,本发明对三种代表性细胞株进行实验,证明了吸亮度与细胞密度之间确实具线性关系,根据此线性关系图,只要测得了吸亮度便能轻易换算出细胞密度。

以下实验中,细胞的计数是取至少 3×10^6 的细胞或 7mL 的细胞液,将细胞离心并收取沉淀物与上清液,以上清液调整细胞浓度至 3×10^6 ,共需 1mL,以上清液配制的细胞液进行 3 倍的序列稀释,共五个点(3×10^6 , 1×10^6 , 3.3×10^5 , 1.1×10^5 , 3.7×10^4),将稀释后的细胞液取 200 μ L 加至 96 孔平底盘,每个稀释点作三重复,另取细胞离心步骤时收集的上清液作为参考组,一格 200 μ L 共三重复,之后以 SpectraMax Paradigm Multi-Mode Microplate Reader 进行全波长(230-1000nm, 10nm)扫描,以最高浓度与 background 的吸光值差距最大的波长做为最适合的波长,再以吸光值与细胞浓度作图。

首先,请参考图 6 与图 7,是以 K562 细胞株作为实验对象(第一实施例),图 8 与图 9 是以 GDT (Gamma delta T) 细胞作为实验对象(第二实施例),图 10 与图 11 是以 NK (Natural Killer) 细胞作为实验对象(第三实施例),从图 6、图 8、图 10 可以看出三种细胞皆在波长 290 纳米时有吸亮度极值,甚至在 400 纳米、500 纳米、600 纳米时仍有显著的吸亮度,对于测知细胞密度来说都是适宜的波长,然而,如图 12 与图 13 所示,290 纳米光线时有较明显的线性关系,故选择 290 纳米的光源进行线性关系的实验。图 7、图 9、图 11 则可看出,在波长 290 纳米的光线照射下,三种细胞的细胞液的吸亮度与实际的细胞密度有确切的线性关系存在,因此,

吸亮度作为细胞密度换算的依据可以说是十分可信。

虽然上述实验主要以波长 290 纳米来进行，但考虑到光线能量较高可能造成细胞损坏，或是对细胞生长有不良影响，在实务上，宜使用波长 400 至 600 纳米的光线来进行光照计数，如图 12 所示，波长 400 至 600 纳米的光线，较佳者为其中波长 400 至 500 纳米的光线，又其中较佳者为波长 400 纳米的光线，其吸亮度与细胞密度的线性关系仍相当明显，但长波长的光线能量较低，光线能量对细胞生长影响较小，适宜于本发明的整合性自动化细胞培养装置，其中，又以波长 400 纳米的光线的吸亮度较显著，应具较佳判读性。

借此，本发明提供的整合性自动化细胞培养装置能以简单快速的方式测知培养室内的环境因素以及培养袋内的细胞密度，而无须打开培养室、甚至打开培养袋进行取样，因此，可作为自动化调整培养环境的依据，进而能够达成较高程度的自动化培养，可大幅降低培养成本，并可维持培养环境稳定，提升细胞培养的质量，为相关业界与医疗业界所企盼，而以上实施例仅在于说明并阐述本发明的技术内容，本发明的专利保护范围应以后述的权利要求书为准。

权 利 要 求

- 1、一种整合性自动化细胞培养装置，其特征在于，包含：
 - 一本体，该本体内围构一培养室，该本体的顶部具有与该培养室连通的一开口，该本体的侧面另具有与该培养室连通的一容纳槽，该培养室的底部供承置一培养袋；
 - 一盖体，可拆地盖设于该本体的该开口上，以封闭该培养室；
 - 一塞座，该塞座供塞设于该容纳槽，该塞座穿设至少一穿孔，该至少一穿孔供至少一管路穿过而穿伸于该培养室与外界之间，该至少一管路的一端供连接至该培养袋；
 - 一供气模块，该供气模块包含一二氧化碳传感器与一供气连接器，该二氧化碳传感器设于该培养室内，该二氧化碳传感器电连接于该供气连接器，该供气连接器设于该本体而供外界的气体源连接，以对该培养室内供给气体；
 - 一温控模块，设于该本体与该盖体的至少其中一者，包含一加热器与一温度传感器，该温度传感器电连接于该加热器，该温度传感器供感测该培养室内的温度并驱使该加热器选择性地对该培养室加热；
 - 至少一滑轨部与一夹袋件，该至少一滑轨部设于该培养室而沿一滑动方向延伸，该夹袋件可滑动地设于该至少一滑轨部并供压抵该培养袋，以防止该培养袋内的液体流至该培养袋的其中一侧，该夹袋件能于该培养袋上滑动。
- 2、如权利要求 1 所述的整合性自动化细胞培养装置，其特征在于，更包含一光照计数模块，该光照计数模块包含一光源与一光接收器，该光源设于该培养室与该盖体朝向该培养室的一面的其中一者，该光接收器设于该培养室与该盖体朝向该培养室的一面的其中另一者，使该培养袋承置于该培养室内时位于该光源与该光接收器之间，该光源供朝该光接收器发射波长 400 至 600 纳米的光线，该光线穿过该培养袋后被该光接收器所接收并借以计算该培养袋内液体的吸光值，进而计算该培养袋内所含的细胞密度。
- 3、如权利要求 2 所述的整合性自动化细胞培养装置，其特征在于，更包含该培养袋，该培养袋具有横向朝外延伸的观测部，该培养袋内的液体与细胞可以自由通透进出该观测部，该光源与该光接收器的位置对应于该观测部，使该光源发出的光线经由该观测部穿过该培养袋。
- 4、如权利要求 2 所述的整合性自动化细胞培养装置，其特征在于，其中该光源供朝该光接收器发射波长 400 纳米的光线。
- 5、如权利要求 1 所述的整合性自动化细胞培养装置，其特征在于，其中该盖

体中央开设一观察窗，该观察窗盖设一加热玻璃，该加热玻璃背向该培养室的一侧另盖设一可掀的掀盖，该掀盖选择性地自外遮蔽该加热玻璃，该加热玻璃即是该加热器，该温度传感器是设于该盖体面向该培养室的一面。

6、如权利要求 1 所述的整合性自动化细胞培养装置，其特征在于，更包含至少一拉撑机构，该至少一拉撑机构至少设于该培养室的一端，以供夹掣该培养袋的一端。

7、如权利要求 1 所述的整合性自动化细胞培养装置，其特征在于，该供气模块与该塞座是分别设于该培养室的相对两端。

8、如权利要求 1 所述的整合性自动化细胞培养装置，其特征在于，更包含一透气支架，该透气支架置于该培养室的底部，以供承置该培养袋。

9、如权利要求 8 所述的整合性自动化细胞培养装置，其特征在于，该透气支架穿设复数镂空部，使该培养袋的底部易于透气。

10、如权利要求 1 所述的整合性自动化细胞培养装置，其特征在于，更包含一保冷箱与一帮浦，该保冷箱设于该本体内而供容纳至少一培养液容器，该帮浦亦设于该本体，该至少一管路经由该帮浦连接至该至少一培养液容器，借以对该培养袋内供给液体。