

一种双泵收获方法及装置

交叉引用

本申请要求2022年12月28日提交的专利名称为“一种双泵收获方法及装置”的第202211701908.6号中国专利申请的优先权，其全部公开内容通
5 过引用整体并入本文。

技术领域

本发明涉及生物工程技术领域，尤其涉及一种双泵收获方法及装置。

背景技术

随着医学技术的不断提升，当代医学领域逐渐从分子治疗迈入细胞治
10 疗。细胞治疗是指将正常或生物工程改造过的人自体或异体细胞移植或输入患者体内，使新输入的细胞能够替代原有受损细胞，或者发挥更强的免疫杀伤功能，以恢复患病细胞的功能或增强免疫细胞对抗特定疾病的能力。

目前生产细胞药物的流程包括细胞培养和浓缩洗涤，而经过浓缩洗涤处理后的细胞用于冻存、回输、检测等作用时需要处理后的细胞进行制
15 剂和分装，当分装袋数和体积较多时，人工计算和操作繁琐复杂，效率低，成本较高。

发明内容

为了解决现有技术存在的问题，本发明提供一种双泵收获方法及装置。

第一方面，本发明提供一种双泵收获方法，包括：

20 浓缩和制剂；所述浓缩包括：

采用两个泵进行浓缩；其中，第一泵的一端连接初始样本容器，另一端连接离心容器；第二泵的一端连接所述离心容器，另一端连接中间产品容器和废液容器；

使所述第二泵和所述第一泵在浓缩时的流速差处于流速阈值，同时所
25 述第二泵的流速更高，以进行连续流浓缩。

优选地，所述流速阈值为 100~200 ml/min。

进一步地，所述第一泵的流速为 100~200ml/min；和/或，所述第二泵的流速为 200~300ml/min。

进一步地，所述第一泵将初始样本从所述初始样本容器中移至所述离心容器中；然后离心，所述第二泵将所述离心容器中的上清液移至所述废液容器，进而形成所述循环连续流浓缩，直至所述离心容器中细胞液的体
5 积低于浓缩阈值。优选地，所述浓缩阈值为 70~150mL。

进一步地，在所述循环连续流浓缩的过程中，预设浓缩体积；依据所述浓缩体积确定循环次数。例如预设浓缩体积为 1000mL，则循环次数=初始样本体积/1000mL，向下取整。

10 进一步地，所述浓缩还包括：

通过初始样本体积确定浓缩方式：

当初始样本体积大于所述初始样本容器的体积的预设倍数以上时，使用循环连续流浓缩，否则使用标准连续流浓缩。

优选地，所述预设倍数为 12 倍。

15 进一步地，在所述浓缩过程中，将所述初始样本容器中的初始样本移至离心容器，当所述初始样本容器中的初始样本的量减少至预设百分比以下时，启用气泡传感器。

优选地，所述预设百分比为 30%。

进一步地，所述制剂包括：

20 向所述离心容器中加入第一预设重悬体积的重悬液重悬细胞，之后根据预设总制剂体积判断制剂工艺；

当所述预设总制剂体积小于 250mL 时，采用单轮制剂；

当所述预设总制剂体积大于 250mL 时，采用循环制剂。

进一步地，所述循环制剂包括：

25 向中间容器中加入第一预配方体积的配方液；之后将所述离心容器中的重悬细胞移至所述中间容器中；清洗所述离心容器并且将清洗完毕之后的清洗液移至所述中间容器中；向所述中间容器中加入第二预配方体

积的配方液使得所述中间容器中的细胞液总体积等于所述预设总制剂体积与补偿体积的和；

依据预设的制剂分装数量和分装体积，将所述中间容器中的细胞液进行制剂分装。

5 第二方面，本发明提供一种双泵收获装置，包括：第一泵和第二泵；

所述第一泵的一端连接初始样本容器，另一端连接离心容器；第二泵的一端连接所述离心容器，另一端连接中间产品容器和废液容器；

所述第二泵和所述第一泵在浓缩时的流速差处于流速阈值，同时所述第二泵的流速更高，以进行循环连续流浓缩。

10 第三方面，本发明提供一种细胞制剂系统，所述细胞制剂系统包括所述的双泵收获装置。

本发明具备如下有益效果：

本发明通过特定的双泵工艺，在较高流速的情况下，实现了后续浓缩和制剂的流程中的循环连续流浓缩。结合后续的循环制剂流程，可以显著
15 提高制剂效率和精准性，每一轮循环最大可以制备 9 个产品，高于现有的制备效率。本发明提供的双泵收获容易显著提高细胞药物的生产效率，具有重要意义。

附图说明

为了更清楚地说明本发明或现有技术中的技术方案，下面将对实施例
20 或现有技术描述中所需要使用的附图作一简单地介绍，显而易见地，下面描述中的附图是本发明的一些实施例，对于本领域普通技术人员来讲，在不付出创造性劳动的前提下，还可以根据这些附图获得其他的附图。

图 1 是本发明实施例提供的双泵收获装置示意图；

其中，1：第一泵；2：第二泵；3：离心容器；4：初始样本容器；5：
25 清洗容器；6：重悬容器；7：中间容器；8：废液容器；9：产品容器；10：产品容器；11：产品容器；12：气泡传感器；13：重量传感器；14：阀门；15：阀门；16：阀门。

具体实施方式

为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚，下面将结合本发明中的附图，对本发明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
5 施例，本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例，都属于本发明保护的范围。

本发明提供一种双泵收获流程，包括：

浓缩和制剂；所述浓缩包括：

采用两个泵进行浓缩；其中，第一泵的一端连接初始样本容器，另一
10 端连接离心容器；第二泵的一端连接所述离心容器，另一端连接中间产品容器和废液容器；

使所述第二泵和所述第一泵在浓缩时的流速差处于流速阈值，同时所述
第二泵的流速更高，以进行循环连续流浓缩。

以图 1 所示的装置为例，流程如下：

15 第一步：耗材自检；包括耗材录入，耗材密封性，排废液检测，自检参考值，气泡/压力传感器性能和连续流检测。

第二步：参数设置；输入初始的样本体积（0-99999mL），对输入的初始样本体积进行判断浓缩方式，根据离心容器 3 容量大小确定浓缩的条件。
具体地，当输入的初始样本体积大于离心容器 3 的容量 12 倍以上时，使用
20 循环连续流浓缩，否则使用标准连续流浓缩，例如当离心容器 3 的容量为 1L 时，当初始的样本体积为 12L 以上时使用循环连续流浓缩。离心容器 3 可以选择多种类型的可进行离心的装置，例如离心杯。

在进行连续流浓缩时，初始样本从初始样本容器 4 经由第一泵 1 注入离心容器 3 中，在这一过程中监控初始样本容器 4 中初始样本的剩余体积，
25 在剩余体积低于体积阈值时启用气泡传感器 12，其可以用于监控初始样本是否完全从初始样本容器 4 中输出。

进一步地，初始样本容器 4 中初始样本的剩余体积可以通过多种方式

监控,例如采用重量传感器 13,当重量降低至初始重量的体积阈值以下时即可启动气泡传感器 12。

进一步地,体积阈值是预设的阈值,优选为 20%~40%,进一步优选为 30%。

5 第三步:浓缩;

基于上一步骤中对于浓缩的方式的判断,进行标准连续流浓缩,或循环连续流浓缩;标准连续流浓缩的步骤如下:

标准连续流浓缩参数:离心容器 3 的离心转速 2200rpm,第一泵 1 流速 220mL/min,第二泵 2 的流速 400mL/min,进行标准连续流浓缩:

10 先向离心容器 3 中进液预设容量进行离心,然后通过第一泵 1 的进液流速 220mL/min,然后通过第二泵 2 抽取出液流速 400mL/min,第一泵 1 的流速小于第二泵 2,且两个泵的流速差在流速阈值,以实现连续流浓缩,两个泵均不间断地进行工作凭借流速差达到浓缩效果。流速阈值优选为 100~200 mL/min,实际应用过程中可以根据初始样本的体积进行选择。

15 进一步地,通过气泡传感器 12 监控进液程度,至进液结束完成标准连续流浓缩。

循环连续流浓缩参数:

1、循环浓缩次数的确定:

根据每一轮浓缩的体积确定循环次数,例如每一轮浓缩的体积为 5L 时,
20 循环次数=初始样本体积/5L;例如每一轮浓缩的体积为 4L 时,循环次数=初始样本体积/4L。

25 每一轮浓缩的方式和上述标准连续流浓缩相同,在一定的流速差的情况下进行连续流浓缩,第一泵 1 将初始样本从初始样本容器 4 中抽取至离心容器 3 中;然后离心,然后第二泵 2 将上清液抽取至废液容器 8 中。直至离心容器 3 中剩余体积 140~145mL 的细胞液(这一体积可以进行预设,与离心容器 3 的体积相关,例如使用大离心容器时可以控制剩余体积为 140~145mL,在使用小离心容器时可以控制剩余体积为 70~75mL),然后将

其抽取至中间容器 7 中。本发明实施例所用中间容器 7 优选为中间产品袋。

2、在最后一次循环浓缩时，启用气泡传感器 12 监控进度。

3、收尾：可以继续将中间容器 7 中的细胞液重复上述连续流浓缩的流程，以进一步浓缩。

5 第四步：清洗；

在浓缩结束后，对残留在离心容器 3 中的细胞液进行清洗，清洗为通过第一泵 1 从清洗液容器 5 中抽取清洗液和细胞液中其他成分融合后继续离心，通过第二泵 2 将上清液抽至废液容器 8 中。清洗程度可以根据离心容器 3 的体积进行确定，例如使用大离心容器时可以控制剩余体积为
10 140~145mL，在使用小离心容器时可以控制剩余体积为 70~75mL。

进一步地，可以预先设置清洗次数，以及单次清洗的体积，例如清洗 0~10 次，单次清洗体积 0~175mL。

第五步：冻存液清洗；

在上一步清洗结束后，可选择使用冻存液进行清洗，其步骤和上一清洗步骤相同，可以预先设置清洗 0~5 次，单次清洗体积 0~400mL（对应于
15 大离心容器）或 0~175mL（对应于小离心容器）。

清洗程度同样可以根据离心容器 3 的体积进行确定，例如使用大离心容器时可以控制剩余体积为 90~100mL，在使用小离心容器时可以控制剩余体积为 40~45mL。

20 第六步：重悬；

1、获取浓缩后的细胞液体积，此时经过浓缩和清洗的细胞液位于离心容器 3 中，重悬液从重悬容器 6 中抽至离心容器 3 中，重悬液的体积为预设体积，例如 0~250mL。之后进行混匀，混匀时间同样可以预设，例如混匀 300s。

25 2、在混匀结束后，可以做下一步的取样计数，从而计算出细胞密度。

第七步：制剂分装；

通过总的制剂体积判断分装工艺，设置制剂阈值，当总的制剂体积超

过该阈值时运行循环制剂，当总的制剂体积不超过该阈值时运行单轮制剂。例如设置制剂阈值为 250mL，若小于或者等于 250mL 时，执行单轮制剂。若大于 250mL 时，执行循环制剂。

单轮制剂：

- 5 预设第二次重悬液的体积，将重悬液从重悬容器 6 中抽至离心容器 3 中，例如可以是 0~250mL，同样可以预设混匀时间，混匀后取样计数，计算细胞密度，之后将细胞液直接抽取至产品容器（9、10 或 11）中。可以预先设置分装袋数和体积，例如分装 1~9 袋，每袋的体积为 1~600mL。

循环制剂：

- 10 预设配方液总共打入中间容器 7 的体积，先设置第一次打入中间容器 7 的体积，配方液经由重悬容器 6 抽至离心容器 3 中，重悬细胞后直接打入中间容器 7。之后进行洗杯子，设置清洗次数 0~5，单次清洗体积 0~200mL，清洗液直接打入中间容器 7 中。清洗完毕后，可以再次取样计数，确定细胞密度，并设置第二次配方液打入中间容器 7 的体积，此次加上补偿体积，
- 15 补偿体积的计算方法是：每多一个分装袋数，补偿 1mL。

进一步地，在完成上述步骤后，从中间容器 7 中进行制剂分装，分装至产品容器（9、10 或 11）中，其数量和体积均为预设，例如分装袋数 1~9 袋，每袋体积 10~5000mL。

- 进一步地，每一个产品容器对应一个阀门，例如产品容器 9 对应阀门
- 20 14，产品容器 10 对应阀门 15，产品容器 11 对应阀门 16。在实际应用过程中，产品容器装满后，即可关闭阀门，更换产品容器，后再打开阀门，即可实现连续分装。

- 现有的工艺一般只能处理小批量的细胞，而本发明提供的双泵的工艺通过两种不同浓缩方式的灵活运用，可以处理大通量的细胞，因其流速高的优点，浓缩细胞的效率更高，减少细胞因长时间离心对细胞的损伤，提高了细胞的得率与活率。以下为采用本发明实施例提供的双泵收获方法处理细胞的得率和活率，实际应用过程中均采用优选参数进行。结果如下表
- 25

所示：

表 1 采用双泵收获工艺处理一千亿左右细胞的得率与活率

批次	样本	细胞密度	样本体积 ml	活率%	细胞数量*10 ⁹	丢失/得率%	杯子	清洗液
第一次	T 细胞	3.22E+06	3911.70	96.00%	1.26E+11		离心容器 样本	NACL+胎牛 血清
	废液	2.20E+04	4300.00		9.46E+07	0.751%		
	收获	7.52E+07	157.60	95.26%	1.19E+11	94.06%		
第二次	T 细胞	4.48E+06	1742.50	94.42%	7.81E+10		离心容器 样本	NACL+胎牛 血清
	废液	2.00E+04	2500.00		5.00E+07	0.641%		
	收获	4.80E+07	150.00	93.35%	7.20E+10	92.23%		

本发明实施例进一步采用双泵收获工艺进行十轮制剂，制剂体积为 1500mL，监控其中阀门 14、阀门 15 和阀门 16 的输入、显示和误差，结果如下：

表 2 第一轮-第三轮的输入、显示和误差

	第一轮			第二轮			第三轮		
	阀门 14	阀门 15	阀门 16	阀门 14	阀门 15	阀门 16	阀门 14	阀门 15	阀门 16
输入	20	20	20	20	20	20	20	20	20
显示	21.1	22.3	21.8	21.2	22	22	21.8	22.3	21.8
实际	21.5	21.8	22.1	21.4	21.7	22.4	21.9	22.1	22.1
误差	0.4	-0.5	0.3	0.2	-0.3	0.4	0.1	-0.2	0.3

表 3 第四轮、第五轮的输入、显示和误差

	第四轮			第五轮		
	阀门 14	阀门 15	阀门 16	阀门 14	阀门 15	阀门 16
输入	20	20	20	20	20	20
显示	21.5	22.2	22	21.6	21.9	22.2
实际	21.8	22.2	21.9	22	22.2	21.9
误差	0.3	0	-0.1	0.4	0.3	-0.3

表 4 第六轮-第八轮的输入、显示和误差

	第六轮			第七轮			第八轮		
	阀门 14	阀门 15	阀门 16	阀门 14	阀门 15	阀门 16	阀门 14	阀门 15	阀门 16
输入	20	20	20	20	20	20	20	20	20
显示	21.3	22.4	22.4	21.7	22.3	21.9	21.6	22.3	21.5
实际	22.1	22.6	22	21.8	22.1	21.8	22	22.5	22.4
误差	0.8	0.2	-0.4	0.1	-0.2	-0.1	0.4	0.2	0.9

表 5 第九轮、第十轮的输入、显示和误差

	第九轮			第十轮		
	阀门 14	阀门 15	阀门 16	阀门 14	阀门 15	阀门 16
输入	20	20	20	20	20	20
显示	21.3	22.5	22.1	21.7	22	21.8
实际	22.1	22.3	22	22.1	21.7	21.9
误差	0.8	-0.2	-0.1	0.4	-0.3	0.1

本发明实施例进一步对比现有的不使用双泵收获工艺制剂，采用现有的单泵收获工艺的制剂效果结果如下表所示，可见单泵工艺制剂的误差要

5 显著高于本发明实施例提供的双泵收获工艺。

表 6 单泵收获工艺

制剂	目标值	显示值(ml)			实际值(ml)			实际值误差 (ml)		
		第一袋	第二袋	第三袋	第一袋	第二袋	第三袋	第一袋	第二袋	第三袋
第一次	20	21.2	22.8	23.1	20.3	21	23.6	0.3	1	3.6
第二次		21.8	22.3	21.9	20.2	21.1	22.4	0.2	1.1	2.4
第三次		21.8	22.8	21.6	20.1	22.5	23.3	0.1	2.5	3.3

最后应说明的是：以上实施例仅用以说明本发明的技术方案，而非对其限制；尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明，本领域的普通技术人员应当理解：其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改，或者对其中部分技术特征进行等同替换；而这些修改或者替换，并不使相应技术方案的本质脱离本发明各实施例技术方案的精神和范围。

10

工业实用性

本发明提供一种双泵收获方法及装置。所述双泵收获方法包括：浓缩和制剂；所述浓缩包括：采用两个泵进行浓缩；其中，第一泵的一端连接初始样本容器，另一端连接离心容器；第二泵的一端连接所述离心容器，
5 另一端连接中间产品容器和废液容器；使所述第二泵和所述第一泵在浓缩时的流速差处于流速阈值，同时所述第二泵的流速更高，以进行连续流浓缩。本发明通过特定的双泵工艺实现了循环连续流浓缩流程，结合后续的循环制剂得到一种细胞制剂方法，无需人工操作，即可达到多制剂袋进行制剂的功能，提高了制剂效率和精准性，在细胞药物生产的领域具有重要意义，
10 具有较好的经济价值和应用前景。

权 利 要 求 书

1. 一种双泵收获方法，其特征在于，包括：

浓缩和制剂；所述浓缩包括：

采用两个泵进行浓缩；其中，第一泵的一端连接初始样本容器，另一端连接离心容器；第二泵的一端连接所述离心容器，另一端连接中间产品容器和废液容器；

使所述第二泵和所述第一泵在浓缩时的流速差处于流速阈值，同时所述第二泵的流速更高，以进行连续流浓缩。

2. 根据权利要求 1 所述的双泵收获方法，其特征在于，所述第一泵的流速为 100~200ml/min；和/或，所述第二泵的流速为 200~300ml/min。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的双泵收获方法，其特征在于，所述第一泵将初始样本从所述初始样本容器中移至所述离心容器中；然后离心，所述第二泵将所述离心容器中的上清液移至所述废液容器，进而形成所述连续流浓缩，直至所述离心容器中细胞液的体积低于浓缩阈值。

4. 根据权利要求 3 所述的双泵收获方法，其特征在于，在所述循环连续流浓缩的过程中，预设浓缩体积；依据所述浓缩体积确定循环次数。

5. 根据权利要求 1-4 任一项所述的双泵收获方法，其特征在于，所述浓缩还包括：

通过初始样本体积确定浓缩方式：

当初始样本体积大于所述初始样本容器的体积的预设倍数时，使用循环连续流浓缩，否则使用标准连续流浓缩。

6. 根据权利要求 1 所述的双泵收获方法，其特征在于，

在所述浓缩过程中，将所述初始样本容器中的初始样本移至离心容器，当所述初始样本容器中的初始样本的量减少至预设百分比时，启用气泡传感器。

7. 根据权利要求 1 所述的双泵收获方法，其特征在于，所述制剂包括：向所述离心容器中加入第一预设重悬体积的重悬液重悬细胞，之后根

据预设总制剂体积判断制剂工艺；

当所述预设总制剂体积小于 250mL 时，采用单轮制剂；

当所述预设总制剂体积大于 250mL 时，采用循环制剂。

8. 根据权利要求 7 所述的双泵收获方法，其特征在于，

5 所述循环制剂包括：

向中间容器中加入第一预设配方体积的配方液；之后将所述离心容器中的重悬细胞移至所述中间容器中；清洗所述离心容器并且将清洗完毕之后的清洗液移至所述中间容器中；向所述中间容器中加入第二预设配方体积的配方液使得所述中间容器中的细胞液总体积等于所述预设总制剂体
10 积与补偿体积的和；

依据预设的制剂分装数量和分装体积，将所述中间容器中的细胞液进行制剂分装。

9. 一种双泵收获装置，其特征在于，包括：第一泵和第二泵；

所述第一泵的一端连接初始样本容器，另一端连接离心容器；第二泵
15 的一端连接所述离心容器，另一端连接中间产品容器和废液容器；

所述第二泵和所述第一泵在浓缩时的流速差处于流速阈值，同时所述第二泵的流速更高，以进行循环连续流浓缩。

10. 一种细胞制剂系统，其特征在于，所述细胞制剂系统包括如权利要求 9 所述的双泵收获装置。

20