

垂直轮反应器系统

货号	品名	规格	数量
垂直轮反应器系统组成			
E00100	垂直轮反应器基座 A 型	EA	1
E001C1	垂直轮反应器 100mL	EA	1
E001C2	垂直轮反应器 500mL	EA	1



1. 产品描述

垂直轮反应器系统是一种一次性细胞培养设备，主要用于 CGT 领域中的干细胞和淋巴细胞悬浮培养。该系统由垂直轮搅拌器和基座组成，基座单元用于支撑容器，可以同时承载两个一次性反应器。整体可用 70% 异丙醇或酒精擦拭消毒。基座单元附带的电源适配器，通过 220 V 的交流电源供电，一次性反应器三层塑料袋密封保存，经过电子束辐射灭菌，在安全柜中拆除外包装后直接使用。垂直轮反应器中的搅拌速率由生物反应器基座上的速度调节旋钮控制。为了调节培养液中的温度、pH 和溶解氧 (DO) 水平，系统必须放置在有适当温度和气体控制的细胞房或培养箱中。

2. 企业质量体系

上海源培生物科技股份有限公司已取得 ISO9001:2015、ISO13485:2016 质量体系认证。

3. 系统组成

货号	品名	规格	数量
E00100	垂直轮反应器基座 A 型	EA	1
	电源适配器	EA	1
E001C1	垂直轮反应器 100mL	EA	1
E001C2	垂直轮反应器 500mL	EA	1

4. 利用垂直轮反应器系统进行 iPSC/ES 悬浮培养标准操作流程

4.1. 培养前准备与细胞复苏

本流程覆盖从液氮冻存状态复苏的人诱导多能干细胞 (iPSC)，也可直接或经平面贴壁扩增 (推荐方式) 至接种垂直轮生物反应器完成 3D 悬浮扩增培养。

关键物料与设备清单推荐

3D 培养启动前，请准备以下培养物品：

- 培养基：StemGro® TeSR-3D 干细胞培养基 (货号 T441KJ)。
- 添加剂：iPSC/ESC 3D 成球添加剂 (货号 S351J0)
- 消化液：Trpzyme® iPSC/ESC 细胞消化液 (货号 S349JV)。

- 清洗液：不含钙镁离子和酚红的 DPBS (货号 B210KJ)。

- 垂直轮反应器基座 (货号 E00100)
- 垂直轮反应器 100mL (货号 E001C1)
- 垂直轮反应器 500mL (货号 E001C2)

△ 注意事项：反应器基座出厂状态并非无菌，移入 GMP 级别洁净区前须用 75% 乙醇 (或其他适用的非腐蚀性消毒剂) 充分擦拭外壳。基座供电插头严禁置于培养箱内部，以防湿气引发漏电或短路。

冻存细胞复苏操作

冻存细胞的复苏质量直接决定后续扩增效率，快速解冻以最大限度减少冰晶对细胞膜的损伤。

4.2. 种子细胞制备

复苏后的细胞可直接单细胞接种到反应器或在贴壁条件下进行传代扩增，以恢复活性并积累足够数量用于反应器接种。高质量的种子细胞是 3D 悬浮培养成功的关键前提。根据细胞培养工艺决定起始接种方式。

4.3. 垂直轮反应器 3D 悬浮培养

以下进入反应器培养阶段。垂直轮反应器基座 (以下简称基座) 通过同轴直驱技术为一次性反应器提供稳定动力输出，其搅拌机制可在低剪切条件下维持细胞团块的均匀悬浮状态，特别适合 hPSC 等剪切敏感型细胞的规模化扩增，也适用于其他种类的可悬浮培养的细胞。

4.3.1. 反应器系统安装与调试

- 基座放置：将基座安放于培养箱内稳固水平台面上。电源线从培养箱门缝引出，接头部分留在箱外干燥环境中。
- 通电自检：接入 24V DC 电源适配器并接通市电，将电源开关拨至工作档位。缓慢顺时针旋转调速旋钮，观察驱动磁块是否平稳旋转，有无异响或周期性卡顿。如有异常，将转速回零后重新启动。
- 安装反应容器：在调速旋钮回零状态下，取 100mL 或 500mL 一次性反应器，将其背面的燕尾型导轨对准基座对应凹槽，沿垂直方向推入到底。轻摇反应器确认安装牢固无松动。

△ 注意事项：反应器基座在培养箱内持续运行期间应注意散热空间，其额定功率为 20W。每 6 个月建议进行一次转速校准以确保显示值与实际值偏差在允许范围（低速 $\leq \pm 1$ RPM，中高速 $\leq \pm 2$ RPM）内。本设备支持在紧急情况可直拔电源插头断电。

StemGro® 垂直轮反应器系统推荐运行参数

参数项	E001C1	E001C2
推荐培养体积	60-100 mL	300-500 mL
体积使用范围	20-100 mL	100-500 mL
推荐接种密度（视细胞类型及培养基成分而定）	2-80 × 10 ⁴ cells/mL	2-80 × 10 ⁴ cells/mL
转速（推荐起点）	50-60 RPM	30-50 RPM
推荐收获密度（视细胞类型及培养基成分而定）	5-10 × 10 ⁵ cells/mL	5-10 × 10 ⁵ cells/mL
一般 PDT	24-48 小时	24-48 小时

△ 注意事项：转速设定是影响培养效果的核心工艺参数，推荐：在确保细胞团块/微载体充分悬浮不下沉的最低转速附近工作。初始实验推荐围绕建议值设置梯度测试，通过比较各组的细胞增殖曲线和团块均一性来确定最优值。

4.3.2. 反应器接种与培养启动

将制备的种子单细胞悬液接入一次性反应器中，正式启动 3D 悬浮培养流程。

1. 在 BSC 内操作：取下反应器的通气密封盖，将预温至 37°C 的起始培养基沿开口处注入容器。注入量按照预设培养体积减去种子悬液体积计算。
2. 将已计数的种子细胞悬液通过上述开口缓缓加入——移液管尖端应置于培养液面下方或紧贴液面，使注入过程不产生液滴飞溅，以降低气-液界面剪切应力。
3. 盖紧通气密封盖。将反应器转移至培养箱，装入基座卡槽。
4. 设置转速至目标值。观察数秒确认搅拌轮运转平稳、无异常。如果运转卡顿，则须取下反应器重新放回，直至运行流畅稳定
5. 基座的双工位设计支持同步运行两台反应器，两台容器的培养环境一致性由同轴传动系统保证。

4.3.3. 培养过程管理

培养环境与参数

本产品需置于 CO₂ 培养箱中使用，液体内温度及氧合值于培养箱环境一致。请参考培养箱设置参数。

搅拌转速动态管理

1. 每日取少量培养悬液镜检，关注细胞团块的平均直径和粒径分布。
2. 通常情况下转速与细胞团粒径成反比，即转速低会使细胞团直径偏大，转数高会使细胞团直径偏小。推荐通过适度调整转速（每次增幅 3-5 RPM）控制细胞团径大小。
3. 若出现大量离散单细胞伴随活力下降，可能提示剪切力偏高，需调整参数。
4. 每次调整转速后须在日志中记录变更时间、调整值以及调整依据。

△ 注意事项：垂直轮设计的本质优势在于其温和的流场特性——在确保细胞悬浮的前提下，系统施加的剪切力远低于传统桨式搅拌。然而不同细胞系对剪切力的耐受阈值存在差异，转速的个性化优化是不可或缺的工艺开发环节。

4.3.4. 取样与培养指标监测

定期取样是评估培养进程的现有唯一手段。推荐将取样时间安排在换液操作之前。

取样操作步骤

从反应器旁侧端口垂直置入移液管（推荐 5 mL）。管端下探至垂直轮侧缘附近取样（约容器中部深度）。

△ 注意事项：强烈建议在生物安全柜中配置一台独立基座，使取样全过程可维持同参数搅拌状态。如果在无搅拌条件下取样，较大细胞团块会快速沉降导致取样偏差，所获计数结果可能会远低于真实值，从而无法准确反映培养的实际进展。

4.3.5. 培养基更换操作

培养基更换是悬浮培养全程中无菌保障要求最严苛的操作环节。可采用周期性全量换液或半量换液方案，换液量、换液频率、培养天数与培养基种类及细胞类型有关，需要自行优化。

换液执行

1. 暂停基座搅拌，将反应器从基座上取下，放置于培养箱内。启动计时器——让细胞团块在重力作用下向容器底部沉降。
2. 可适当用手指轻叩反应器外壁，促使可能黏附在搅拌轮叶片上的细胞团块振落并参与沉降。
3. 沉降结束后，以移液管从液面上方缓慢、平稳地抽取计算出量的旧培养基。操作要诀在于移液管口始终保持在液面下方但远离底部细胞层，避免抽吸造成沉淀被扰动。
4. 如需快速换液，也可通过倾倒方式快速移除上层旧培养基。
5. 用新鲜维持培养基补充至原培养体积，推荐轻缓，沿容器内壁注入以减少对沉降细胞的干扰。

6. 若同时管理多台反应器，逐台依次操作，不能并行处理——以缩短每台容器细胞沉降后的等待时间，从而减少细胞团块之间的融合。

△ 注意事项：换液操作中细胞沉降时长对团块粒径均一性有直接影响。因此操作速度与稳定性同样重要。此外，推荐每步使用的移液管均应一次性使用，避免交叉污染。

4.4. 培养终止与细胞收获

当培养达到预定周期或细胞密度满足目标后，可终止培养并回收细胞产物。根据实验室条件与工艺需求，可选择传统的外部消化法或垂直轮反应器系统支持的原位消化法。

反应器内原位收获

原位收获法需配合反应器自身的搅拌功能辅助酶解，可减少操作环节和潜在的污染暴露窗口。此方法需针对所使用的细胞类型对搅拌转速和消化时长进行预实验优化，请谨慎操作。

1. 预温消化酶。
2. 在培养箱中暂停搅拌，将反应器置于水平面。让细胞团块自然沉降。
3. 尽量吸尽旧培养基：在不破坏底部细胞层的情况下用 10 mL 或 5 mL 移液管将贴近底部团块界面的残余液层精细抽取干净。
4. 将预温的消化液沿容器内壁加入反应器中。
5. 将反应器放回基座，设置合理搅拌转速（如培养转速），启动搅拌以借助液流剪切协同酶解作用。
6. 消化中请及时暂停搅拌取样镜检，确认消化完成（单细胞悬液状态）后，加入等体积维持培养基使酶活性终止。

5. 相关产品

货号	品名	规格	存储条件	运输条件
T430KJ	StemGro® ESS8 多能干细胞培养基	套装		
T440KJ	StemGro® TeSR 多能干细胞培养基	套装		
T441KJ	StemGro® TeSR-3D 多能干细胞培养基	套装		
S349JV	Trpzyme® iPSC/ES 细胞消化液，不含酚红	100 mL	2 ~ 30 °C	常温
S504J0	10mM Y-27632 溶液	1 mL	-30~-5 °C	干冰
S351J0	iPSC/ESC 3D 成球添加剂	1 mL	-30~-5 °C	干冰
S919JV	CD-Freezer® 化学成分限定细胞冻存液	100 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
B210KJ	Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS)，不含钙、镁离子和酚红	500 mL	2 ~ 30 °C	常温
B220KJ	Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS)，含钙、镁离子，不含酚红	500 mL	2 ~ 30 °C	常温

△ 注意事项：若培养体系中使用了微载体，收获时可通过筛网进行固液分离。原位法的搅拌转速不应超过细胞在该体系中可承受的剪切上限，预实验应做转速-时间矩阵测试以获得最佳组合。

4.5. 无菌技术与生物安全规范

hPSC 培养对微生物污染高度敏感，且涉及人源细胞的生物安全管控要求。以下为贯穿全部操作环节的规范：

1. 反应器端口管理：一次性反应器的通气盖仅在必须加液或取样时才可短暂开启，操作完毕即刻盖回。
2. 耗材单次使用原则：血清移液管、移液器吸头、离心管等所有直接接触细胞或培养基的一次性耗材，一经使用立即废弃，严禁在培养基瓶与培养容器之间交叉使用同一移液管。
3. 可疑污染处置：培养期间若发现培养基浊度异常、颜色突变、显微镜下出现非细胞结构异物或细菌/真菌形态，应立即封存该培养容器、标记“待检测”并通知实验室负责人。同步取样送微生物培养鉴定，在结果出来前该培养物不得与其他正常培养物共用设备或空间。
4. 设备维护：培养箱每月至少进行一次全面清洁和消毒；CO₂传感器和温度探头每季度校准一次，确保培养环境参数准确。基座定期以 75%乙醇擦拭外壳。
5. E001C1 及 E001C2 为一次性反应器，不建议重复使用，如单次培养时长超过 7 天，推荐在换液时更换新反应器以防止细胞代谢产物在反应器内壁上堆积。