

# 在线测试应用 #2023-07-31

## AP-100全自动在线分析仪 葡萄糖监测与控制的应用

陈浩帆 深圳市宝安区松岗街道潭头社区芙蓉路9号旭生融和谷二期14号楼 (www.siemanbio.com)

### 摘要

关键工艺参数(如葡萄糖、谷氨酰胺、乳酸等)必须在每个生物过程中进行监测和控制, 以便以有效的方式达到期望的产品质量与产量。目前虽然可以离线取样进行实时计算调控, 但仍然缺乏更快、更精准的方式使分析人员控制的结果更契合实际发酵培养过程的需求。本文通过在线对反应器取样的实验展示了AP-100对发酵培养液参数的监测与控制, AP-100集成了取样模块与软硬件升级, 并能结合西尔曼分析参数信息收集管理系统LIS, 符合21 CFR PART 11与cGMP要求。本文以CHO-K1培养过程的代谢分析控制实验来演示葡萄糖浓度的检测和控制。

### 介绍

在一些生物药企、生物技术等公司里, 使用DoE等进行生物工艺开发及工艺表征研究的目的是, 是要得到一个稳定高效的工艺, 来生产高质量、高产量的产品。为了实现这一目的, 相关的规范指导方针也有给出关键工艺参数(CPPs)、重要工艺参数(kPPs)或关键材料属性(CMAs)等概念, 这些概念对工艺性能和产品质量都有重要的影响。在QbD理念中, 关键工艺参数(Critical process parameters, CPPs)贯穿整个制剂生命周期, 从研发、放大到验证, 涉及每个工艺流程操作环节。ICH Q8文件中也提到“CPPs需要被识别和控制使得产品达到需要的质量属性目标”, 所以CPPs也通常被建议用于研发生产环节及质量控制保证。实时在线的参数监测与控制, 并对结果进行分析, 能够更好地对培养工艺进行优化与控制。如图(图1)所示, 西尔曼AP-100可对多种CPPs进行监测, 可通过LIS软件在线实时地获得多个分析结果, AP-100检测结果反馈给补料控制模块能对相关CPPs进行控制。借助西尔曼在线分析控制的技术升级, 可以支持客户更深入地理解生物培养过程变化, 最终得到稳定高效的生物培养控制工艺。

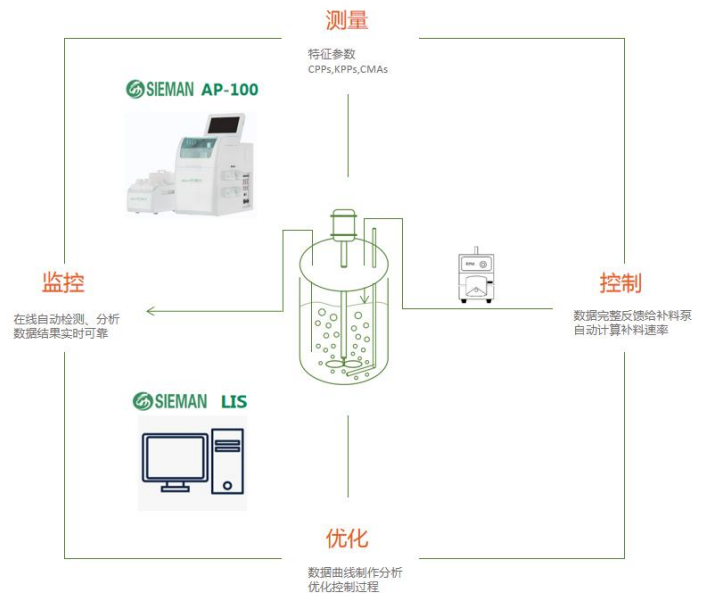


图1: 西尔曼AP-100在线分析仪+分析软件LIS+ 取样补料模块, 精准、高效、稳定地对工艺监测与控制设计。在此循环中, 有效地对CPPs、kPPs、CMAs的表征进行监控, 并可对这些参数进行分析、优化和控制。

CQA分析较常用的参考方法是HPLC方法或酶反应分析方法，酶分析方法又包含固定化酶膜电极法、液态酶反应光学法等；这些方法一般都是离线进行分析，很少有在线对生物培养过程实时地进行监测分析并控制的方法。为了更便捷更精准地控制培养工艺，西尔曼科技在使用作为金标准的固定化酶膜电极法原理的基础上，推出了M-online生化分析系统的全面升级版在线分析仪AP-100，如图1所示，结合了Seiman LIS（实验室信息系统软件），可进行仪器状态查看、样本测试、数据查看、数据统计分析、数据曲线绘制、样本测试等操作；结合取样模块与数据传输控制的补料泵系统模块，给用户提供了一个在线取样分析精准控制的解决方案。以下模拟CHO-K1培养为例，介绍AP-100及取样模块、补料模块的联合使用的葡萄糖浓度测试研究。

## 系统配备

Sieman AP-100+LIS 在线取样分析，定量取样模块、补料系统配备模块详细如下：

1.AP-100分析控制模块：可采用多种模式(原液、稀释、智能、快速、精准)，对样品进行生化及离子参数测定；可设置相应通道的取样体积、取样频率、补料控制终浓度及补料泵通讯信息等。最多可对4个生物反应器同时进行参数分析控制。

2.定量、补料模块：



取样探杆+过滤陶瓷膜、联动控制的补料泵。



3.Sieman LIS系统：查看数据与日志，自动绘制曲线对生物培养过程进行分析。

## 闭环控制系统，LIS软件支持在线查看并分析



图2: 实验室所需基础设施包括两个主要层次:实验室硬件和控制系统的软件。应用的硬件包括生物反应器系统(包括泵、天平等), AP-100本身配有多通道取样模块, 可支持多个生物反应器在线定量取样测试控制, 并且可针对不同样品浓度决定是否采取稀释功能, 取样探杆不带膜与带陶瓷膜的过滤测试结果也与离心测试结果基本一致。工作过程数据及培养样品的路径及控制方向在图中以蓝色线及蓝色箭头标识。在软件层面, 则可以再借助LIS, 它可以掌握设备之间的数据通信以及控制动作, 并对检测结果进行分析。

仪器自动从生物培养罐中无菌采集样本，并导入至测试区域。样本中所含的待测物质在特定的电极上产生电信号。仪器通过采集电极上的电信号来计算待测物的浓度。测样前仪器通过对已知浓度的标准品进行定标，标准品的电压值是衡量待测物质浓度的尺度。未知浓度可与标准品的电信号相比较而获得。每次测定完毕，仪器会自动清洗每个电极，清洗完成后即可进行下一次测试。

由于带有补料模块，在测量出指定参数的浓度后补料模块自动、精准的根据用户设定的浓度值执行补料。确保指定参数的浓度持续维持在设定值，从而实现一个全自动的闭环控制。

## 研究案例一目标

演示AP-100在CHO-K1细胞培养过程中葡萄糖的监测，应用葡萄糖在线取样检测数据进行反应器内葡萄糖浓度控制。

## 材料和方法

### 试验设置

该设置包括一个3L生物反应器（SciVario-twin-DR03, effpendorf），分别将带陶瓷膜与不带陶瓷膜的取样探杆插入反应器预留孔位装好（其中带陶瓷膜的取样软管长度为1米、不带陶瓷膜的取样软管长度为5米），灭菌冷却，连接到定量模块，再连接至西尔曼AP-100在线生化分析仪，把200g/L的葡萄糖瓶连接至补料泵模块。反应器配备了pH探头、温度电极、搅拌装置、液位电极、冷却水机（尾气冷凝器）、加热毯以及泵，溶氧电极使用西尔曼自研光学DO电极，提供压缩空气、O<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>，以控制溶氧及pH。细胞计数采用Countstar-IC1000细胞计数仪计数，无菌操作在SW-CJ-1FD超净台内进行。

### CHO-K1培养参数设置及工艺

本次研究通过采用CHO-K1的Fed-Batch过程（添加Feed及Gluc、硅基消泡剂C乳液）演示了AP-100的应用。pO<sub>2</sub>控制在40%，pH值和温度分别控制在7.10±0.1和37℃，搅拌依据P/V=5~10，初始体积V=1.9L，以effpendorf软件默认级联控制。使用AP-100每4小时（中前期）或每2小时（后期）进行一次自动采样和分析。

CHO-K1细胞为GS系统，无需添加谷氨酰胺。pH控制使用7.5%的碳酸氢钠溶液自动调节碱性。基础培养基为奥浦迈 Vega 培养基，补料采用Hyclone Cell boost 7a、7b，培养9天，Day 2添加培养体积1%的7a与0.1%的7b，Day 3~8添加培养体积2%的7a与0.2%的7b，均为一次性分开流加。初始接种密度为2.5×10<sup>5</sup>cells/mL。葡萄糖浓度控制在4g/L，AP-100设置取样及补糖控制如下：

监测周期	参数	取样通道	取样间隔	取样级别	液检时间	取样方式
Day2~9	Gluc	通道1	240→120 min	5	/	无液检
监测周期	参数	取样通道	取样间隔	取样级别	液检时间	取样方式
Day2~9	Gluc	通道2	240→120 min	5	60s→250s	光敏液检

Day7将取样间隔从240min转为120min，其中：通道1为不带陶瓷膜的取样探头，取样软管长度为5米，取样方式为无液检模式。

通道2为带经过挑选陶瓷膜的取样探头，取样软管长度为1米，取样方式为光敏液检，液检时间为60s，由于培养后期细胞密度较高，带陶瓷膜取样会较困难，故在后期将液检时间设为250s。

数据采用	罐内液量	控制浓度	补料液浓度	泵管规格	补料泵地址
通道2	1.9L	4g/L	200g/L	16#, 顺时针	03

使用通道2采集的数据，培养过程每天取样计数，取离心样品进行测试，与在线数据比对。

注：Cell boost 7a里含有葡萄糖，故每次流加后糖浓度会上升。

## 结果

在CHO流加补料阶段，采用AP-100分析葡萄糖浓度，培养过程反应器运行参数如图示（图3）。根据设置Day2~7每4小时J1与J2自动采样分析1次，再以离线取样样品作为对照，两种测量结果具有良好的一致性，过程中葡萄糖的改变及稳定控制证明了在线定量取样测量的可靠性（图4、图5）。

整个培养自动取样过程无染菌现象，并且细胞生长良好（图6），在Day7~9间隔2小时的高频取样（图7）条件下，1米取样软管的带陶瓷膜取样探杆与5米取样软管的不带陶瓷膜取样探杆仍能正常取出样品进行分析（后期细胞密度增高可增加取样液检时间确保取出样品）。



图3: 显示了在CHO流加培养过程中监测pH、DO、Temp和Stir的运行结果, 均能正常控制。

### AP-100能精准控制Gluc浓度及显示补加Cellboost 7a时Gluc上升

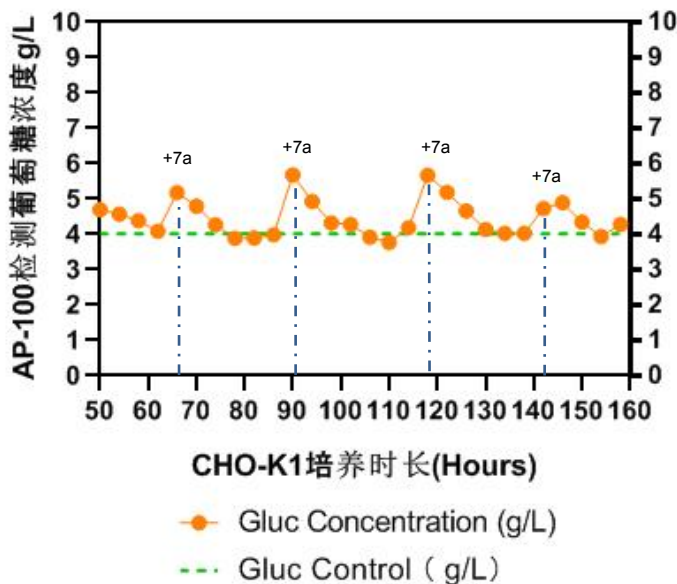


图4:显示了在CHO-K1在Fed-Batch过程中监测葡萄糖(橙色)的结果。由于除了添加葡萄糖每天还会一次性添加Cell boost 7a、7b, 而7a里面含有葡萄糖, 所以每次补加7a后葡萄糖浓度均有上升。如图葡萄糖控制4g/L, 自动添加葡萄糖误差在5%以内, 控制精度与稳定性非常高, 这也跟CHO-K1耗糖比较规律有关。

时间	杯位号	样本号	用户	葡萄糖	铵离子	钾离子	钠离子	钙离子
2023/8/2 18:44	J2	J2-20230802184404	sieman	4.69g/L	0.05g/L	0.25g/L	2.18g/L	0.01g/L
2023/8/2 18:47	J1	J1-20230802184741	sieman	4.83g/L	0.05g/L	0.25g/L	2.17g/L	0.01g/L
2023/8/2 22:44	J2	J2-20230802224411	sieman	4.56g/L	0.05g/L	0.25g/L	2.15g/L	0.01g/L
2023/8/2 22:47	J1	J1-20230802224743	sieman	4.56g/L	0.05g/L	0.25g/L	2.15g/L	0.01g/L
2023/8/3 2:44	J2	J2-20230803024412	sieman	4.38g/L	0.05g/L	0.25g/L	2.22g/L	0.01g/L
2023/8/3 2:47	J1	J1-20230803024744	sieman	4.40g/L	0.05g/L	0.24g/L	2.22g/L	0.01g/L
2023/8/3 6:45	J2	J2-20230803064521	sieman	3.69g/L	0.05g/L	0.24g/L	2.25g/L	0.01g/L
2023/8/3 6:48	J1	J1-20230803064851	sieman	3.44g/L	0.05g/L	0.24g/L	2.24g/L	0.01g/L
2023/8/3 8:01	J2	J2-20230803080151	sieman	4.08g/L	0.05g/L	0.25g/L	2.26g/L	0.01g/L
2023/8/3 8:05	J1	J1-20230803080528	sieman	4.00g/L	0.05g/L	0.24g/L	2.26g/L	0.01g/L
2023/8/3 11:20	J2	J2-20230803112053	sieman	5.17g/L	0.06g/L	0.28g/L	2.35g/L	0.01g/L
2023/8/3 11:24	J1	J1-20230803112430	sieman	5.29g/L	0.06g/L	0.28g/L	2.33g/L	0.01g/L
2023/8/3 15:20	J2	J2-20230803152059	sieman	4.79g/L	0.06g/L	0.27g/L	2.36g/L	0.01g/L
2023/8/3 15:24	J1	J1-20230803152431	sieman	4.78g/L	0.06g/L	0.26g/L	2.35g/L	0.01g/L
2023/8/3 20:39	J2	J2-20230803203931	sieman	4.26g/L	0.06g/L	0.27g/L	2.43g/L	0.01g/L
2023/8/3 20:43	J1	J1-20230803204303	sieman	4.23g/L	0.06g/L	0.26g/L	2.38g/L	0.01g/L
2023/8/4 0:39	J2	J2-20230804003931	sieman	3.88g/L	0.06g/L	0.25g/L	2.47g/L	0.01g/L
2023/8/4 0:43	J1	J1-20230804004306	sieman	4.03g/L	0.06g/L	0.25g/L	2.44g/L	0.01g/L
2023/8/4 4:39	J2	J2-20230804043933	sieman	3.89g/L	0.06g/L	0.25g/L	2.50g/L	0.01g/L
2023/8/4 4:43	J1	J1-20230804044303	sieman	3.82g/L	0.06g/L	0.24g/L	2.47g/L	0.01g/L
2023/8/4 8:39	J2	J2-20230804083929	sieman	3.98g/L	0.06g/L	0.24g/L	2.54g/L	0.01g/L
2023/8/4 8:43	J1	J1-20230804084305	sieman	4.18g/L	0.06g/L	0.24g/L	2.52g/L	0.01g/L
2023/8/4 10:18	S0	离线样品检测	sieman	4.36g/L	0.06g/L	0.24g/L	2.54g/L	0.01g/L
2023/8/4 12:39	J2	J2-20230804123930	sieman	5.67g/L	0.07g/L	0.27g/L	2.62g/L	0.01g/L
2023/8/4 12:43	J1	J1-20230804124307	sieman	5.54g/L	0.07g/L	0.27g/L	2.59g/L	0.01g/L
2023/8/4 16:39	J2	J2-20230804163936	sieman	4.92g/L	0.07g/L	0.27g/L	2.64g/L	0.01g/L
2023/8/4 16:43	J1	J1-20230804164308	sieman	4.98g/L	0.07g/L	0.27g/L	2.61g/L	0.01g/L
2023/8/4 20:39	J2	J2-20230804203930	LIS-User	4.31g/L	0.07g/L	0.26g/L	2.67g/L	0.01g/L
2023/8/4 20:43	J1	J1-20230804204306	LIS-User	4.44g/L	0.07g/L	0.25g/L	2.63g/L	0.01g/L
2023/8/5 0:39	J2	J2-20230805003934	LIS-User	4.27g/L	0.07g/L	0.25g/L	2.69g/L	0.01g/L
2023/8/5 0:43	J1	J1-20230805004310	LIS-User	4.23g/L	0.07g/L	0.25g/L	2.66g/L	0.01g/L
2023/8/5 4:39	J2	J2-20230805043937	LIS-User	3.91g/L	0.07g/L	0.24g/L	2.72g/L	0.01g/L
2023/8/5 4:43	J1	J1-20230805044312	LIS-User	3.73g/L	0.07g/L	0.24g/L	2.69g/L	0.01g/L
2023/8/5 8:39	J2	J2-20230805083933	LIS-User	3.76g/L	0.07g/L	0.25g/L	2.79g/L	0.01g/L
2023/8/5 8:43	J1	J1-20230805084308	LIS-User	3.87g/L	0.07g/L	0.25g/L	2.76g/L	0.01g/L
2023/8/5 12:39	J2	J2-20230805123934	LIS-User	4.18g/L	0.07g/L	0.23g/L	2.79g/L	0.01g/L
2023/8/5 12:43	J1	J1-20230805124310	LIS-User	4.25g/L	0.07g/L	0.23g/L	2.74g/L	0.01g/L
2023/8/5 15:26	S0	离线样品检测	sieman	4.23g/L	0.07g/L	0.23g/L	2.74g/L	0.01g/L
2023/8/5 16:39	J2	J2-20230805163940	sieman	5.66g/L	0.07g/L	0.26g/L	2.80g/L	0.01g/L
2023/8/5 16:43	J1	J1-20230805164313	sieman	5.49g/L	0.07g/L	0.26g/L	2.76g/L	0.01g/L
2023/8/5 20:39	J2	J2-20230805203941	sieman	5.18g/L	0.07g/L	0.25g/L	2.79g/L	0.01g/L
2023/8/5 20:43	J1	J1-20230805204314	sieman	5.01g/L	0.07g/L	0.25g/L	2.77g/L	0.01g/L
2023/8/6 0:39	J2	J2-20230806003942	sieman	4.65g/L	0.07g/L	0.25g/L	2.83g/L	0.01g/L
2023/8/6 0:43	J1	J1-20230806004314	sieman	4.54g/L	0.07g/L	0.25g/L	2.79g/L	0.01g/L
2023/8/6 4:39	J2	J2-20230806043948	sieman	4.13g/L	0.07g/L	0.25g/L	2.84g/L	0.01g/L
2023/8/6 4:43	J1	J1-20230806044318	sieman	4.20g/L	0.07g/L	0.24g/L	2.81g/L	0.01g/L
2023/8/6 8:39	J2	J2-20230806083949	sieman	4.02g/L	0.07g/L	0.25g/L	2.89g/L	0.01g/L
2023/8/6 8:43	J1	J1-20230806084314	sieman	4.10g/L	0.07g/L	0.25g/L	2.86g/L	0.01g/L
2023/8/6 12:39	J2	J2-20230806123950	sieman	4.02g/L	0.06g/L	0.24g/L	2.87g/L	0.01g/L
2023/8/6 12:43	J1	J1-20230806124317	sieman	3.92g/L	0.06g/L	0.23g/L	2.82g/L	0.01g/L

2023/8/6 15:06	S0	离线样品检测	sieman	4.35g/L	0.06g/L	0.23g/L	2.83g/L	0.01g/L
2023/8/6 16:39	J2	J2-20230806163956	sieman	4.72g/L	0.06g/L	0.27g/L	2.86g/L	0.01g/L
2023/8/6 16:43	J1	J1-20230806164319	sieman	5.13g/L	0.06g/L	0.26g/L	2.83g/L	0.01g/L
2023/8/6 20:39	J2	J2-20230806203957	sieman	4.89g/L	0.06g/L	0.26g/L	2.88g/L	0.01g/L
2023/8/6 20:43	J1	J1-20230806204319	sieman	4.87g/L	0.06g/L	0.25g/L	2.84g/L	0.01g/L
2023/8/7 0:39	J2	J2-20230807003958	sieman	4.34g/L	0.06g/L	0.26g/L	2.89g/L	0.01g/L
2023/8/7 0:43	J1	J1-20230807004319	sieman	4.27g/L	0.06g/L	0.25g/L	2.85g/L	0.01g/L
2023/8/7 4:39	J2	J2-20230807043959	sieman	3.93g/L	0.06g/L	0.25g/L	2.86g/L	0.01g/L
2023/8/7 4:43	J1	J1-20230807044319	sieman	3.87g/L	0.06g/L	0.25g/L	2.84g/L	0.01g/L
2023/8/7 8:40	J2	J2-20230807084005	sieman	4.27g/L	0.06g/L	0.25g/L	2.91g/L	0.01g/L
2023/8/7 8:43	J1	J1-20230807084321	sieman	4.12g/L	0.05g/L	0.24g/L	2.89g/L	0.01g/L
2023/8/7 9:27	S0	离线样品检测	sieman	4.04g/L	0.05g/L	0.23g/L	2.91g/L	0.01g/L
2023/8/7 10:40	J2	J2-20230807104005	sieman	5.64g/L	0.05g/L	0.29g/L	2.95g/L	0.01g/L
2023/8/7 10:43	J1	J1-20230807104317	sieman	5.50g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.92g/L	0.01g/L
2023/8/7 12:40	J2	J2-20230807124016	sieman	5.17g/L	0.06g/L	0.29g/L	2.94g/L	0.01g/L
2023/8/7 12:43	J1	J1-20230807124318	sieman	5.03g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.92g/L	0.01g/L
2023/8/7 14:40	J2	J2-20230807144037	sieman	4.84g/L	0.06g/L	0.29g/L	2.94g/L	0.01g/L
2023/8/7 14:43	J1	J1-20230807144320	sieman	4.66g/L	0.06g/L	0.27g/L	2.92g/L	0.01g/L
2023/8/7 16:43	J1	J1-20230807164323	sieman	4.37g/L	0.06g/L	0.27g/L	2.93g/L	0.01g/L
2023/8/7 19:15	J2	液检时间60s→250s	LIS-User	4.26g/L	0.06g/L	0.27g/L	2.91g/L	0.01g/L
2023/8/7 21:30	J2	J2-20230807213020	sieman	3.57g/L	0.05g/L	0.27g/L	2.90g/L	0.01g/L
2023/8/7 21:32	J1	J1-20230807213201	sieman	3.24g/L	0.05g/L	0.26g/L	2.84g/L	0.01g/L
2023/8/7 23:30	J2	J2-20230807233036	sieman	3.87g/L	0.05g/L	0.26g/L	2.92g/L	0.01g/L
2023/8/7 23:32	J1	J1-20230807233217	sieman	3.62g/L	0.05g/L	0.26g/L	2.89g/L	0.01g/L
2023/8/8 1:30	J2	J2-20230808013051	sieman	4.30g/L	0.05g/L	0.26g/L	2.91g/L	0.01g/L
2023/8/8 1:32	J1	J1-20230808013232	sieman	4.23g/L	0.05g/L	0.26g/L	2.89g/L	0.01g/L
2023/8/8 3:30	J2	J2-20230808033057	sieman	3.98g/L	0.05g/L	0.26g/L	2.89g/L	0.01g/L
2023/8/8 3:32	J1	J1-20230808033238	sieman	3.57g/L	0.05g/L	0.26g/L	2.88g/L	0.01g/L
2023/8/8 5:31	J1	J1-20230808053118	sieman	5.13g/L	0.05g/L	0.26g/L	2.90g/L	0.01g/L
2023/8/8 5:32	J2	J2-20230808053259	sieman	4.33g/L	0.05g/L	0.25g/L	2.89g/L	0.01g/L
2023/8/8 7:31	J2	J2-20230808073104	sieman	4.84g/L	0.05g/L	0.26g/L	2.94g/L	0.01g/L
2023/8/8 7:32	J1	J1-20230808073245	sieman	4.22g/L	0.05g/L	0.25g/L	2.93g/L	0.01g/L
2023/8/8 9:32	J1	J1-20230808093207	sieman	4.85g/L	0.05g/L	0.26g/L	2.94g/L	0.01g/L
2023/8/8 9:40	J2	J2-20230808094034	sieman	4.98g/L	0.05g/L	0.26g/L	2.91g/L	0.01g/L
2023/8/8 11:31	J1	J1-20230808113121	sieman	5.59g/L	0.05g/L	0.29g/L	2.97g/L	0.01g/L
2023/8/8 11:33	J2	J2-20230808113302	sieman	5.47g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.94g/L	0.01g/L
2023/8/8 13:31	J1	J1-20230808133122	sieman	5.68g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.95g/L	0.01g/L
2023/8/8 13:33	J2	J2-20230808133303	sieman	5.27g/L	0.05g/L	0.27g/L	2.93g/L	0.01g/L
2023/8/8 15:31	J1	J1-20230808153123	sieman	5.45g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.94g/L	0.01g/L
2023/8/8 15:44	J2	J2-20230808154434	sieman	5.20g/L	0.05g/L	0.30g/L	2.98g/L	0.01g/L
2023/8/8 17:31	J1	J1-20230808173124	sieman	5.05g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.94g/L	0.01g/L
2023/8/8 17:33	J2	J2-20230808173305	sieman	4.54g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.93g/L	0.01g/L
2023/8/8 19:31	J1	J1-20230808193124	sieman	4.41g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.99g/L	0.01g/L
2023/8/8 19:33	J2	J2-20230808193305	sieman	4.26g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.98g/L	0.01g/L
2023/8/8 21:31	J1	J1-20230808213125	sieman	4.18g/L	0.05g/L	0.29g/L	3.06g/L	0.01g/L
2023/8/8 21:33	J2	J2-20230808213306	sieman	4.08g/L	0.05g/L	0.28g/L	3.03g/L	0.01g/L
2023/8/8 23:31	J1	J1-20230808233126	sieman	4.25g/L	0.05g/L	0.29g/L	2.98g/L	0.01g/L
2023/8/8 23:33	J2	J2-20230808233307	sieman	4.02g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.96g/L	0.01g/L
2023/8/9 1:31	J1	J1-20230809013127	sieman	3.86g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.96g/L	0.01g/L
2023/8/9 1:33	J2	J2-20230809013308	sieman	3.79g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.95g/L	0.01g/L
2023/8/9 3:31	J1	J1-20230809033128	sieman	3.92g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.95g/L	0.01g/L
2023/8/9 3:33	J2	J2-20230809033309	sieman	3.81g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.93g/L	0.01g/L
2023/8/9 5:31	J1	J1-20230809053129	sieman	4.45g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.94g/L	0.01g/L
2023/8/9 5:33	J2	J2-20230809053310	sieman	4.14g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.92g/L	0.01g/L
2023/8/9 7:31	J1	J1-20230809073129	sieman	4.12g/L	0.05g/L	0.29g/L	2.94g/L	0.01g/L
2023/8/9 7:33	J2	J2-20230809073310	sieman	4.06g/L	0.05g/L	0.29g/L	2.92g/L	0.01g/L
2023/8/9 9:31	J1	J1-20230809093130	sieman	3.94g/L	0.05g/L	0.28g/L	2.93g/L	0.01g/L
2023/8/9 9:33	J2	J2-20230809093315	sieman	4.27g/L	0.05g/L	0.27g/L	2.88g/L	0.01g/L

图5: 5米取样软管的不带陶瓷膜取样探杆-J1与1米取样软管的带陶瓷膜取样探杆-J2均能正常取出样品, 检测结果基本无差异, 手动取样离心样品S0与自动取样样品结果具有良好的一致性。

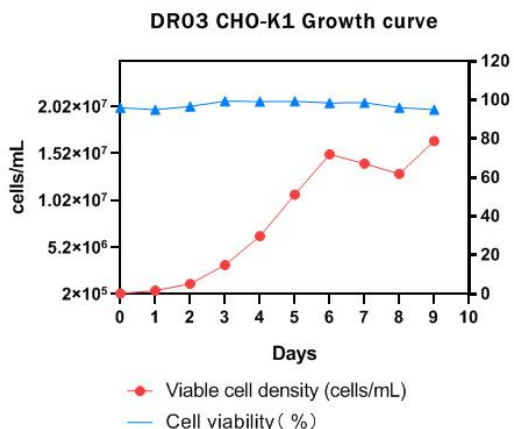


图6: Day 1~Day 9细胞密度及活率如图所示, VCD峰密度在 $1.5 \times 10^7$  cells/mL左右, 过程无染菌现象出现。

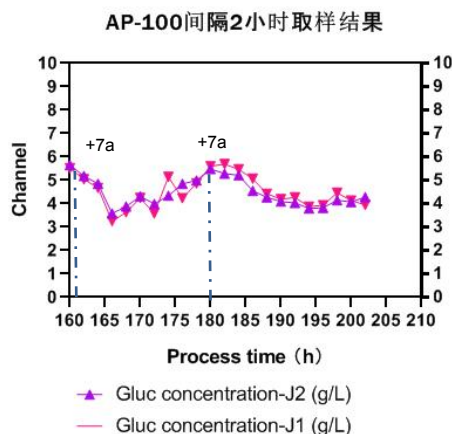


图7:在Day7~9间隔2小时的高频取样条件下J1和J2通道均能正常取样。

## 结论

通过AP-100及纳米陶瓷膜、取样探杆与定量模块各模块的在线采样补料处理及LIS软件的管理和控制, 成功建立了生物反应器与生物传感分析仪、补料泵系统的连接。对CHO-K1的流加培养过程进行演示, 证明AP-100装置可作为基质、代谢物和流加控制的有效用具。

在演示的应用程序中, 使用的采样和分析间隔为120~240分钟, 目前单通道最小取样间隔为15分钟。AP-100除了应用在葡萄糖浓度检测与控制上, 还可应用其他参数检测与控制, 包括: 乳酸、蔗糖、谷氨酸、谷氨酰胺、赖氨酸、甲醇、乙醇、甘油、木糖、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{++}$ 等。

此外, 通过AP-100系统软件精密计算, 使得控制特定分析物的目标浓度成为可能, 在取样时间足够短时控制浓度误差能在3%以内, 即便自动取样时间长至4h, 对于消耗不快的培养物, 控制浓度误差也能控制在5%以内。

综上所述, AP-100在线生物传感分析仪系统的推出, 极大地方便了过程控制与代谢流分析, 使得培养过程能更顺利地进行。因此, 结合了在线取样与分析、补料的AP-100系统是微生物或细胞培养用户的优选实验仪器。

## 关键结果

- 
- 成功监测葡萄糖和离子浓度。
  - 最多可选4通道在线取样分析，最低15分钟的单通道高采样频率(包括采样、分析和LIS记录、计算AP-100的分析结果反馈给补料泵)。
  - 葡萄糖浓度可由AP-100系统和联动补料泵两者的结合和相互作用实现控制。
  - AP-100西尔曼®在线分析结果能与离线取样离心分析结果具有一致性。
  - AP-100西尔曼®定量模块具备开关控制功能，取样过程无染菌现象。
  - AP-100西尔曼®使用良好的陶瓷膜能对培养过程高密度细胞进行稳定自动采样。
  - AP-100西尔曼®能使用不带陶瓷膜的取样探杆进行5米距离的高密度细胞生物反应器稳定自动采样。
- 

### 参考文献

- [1] Guideline IHT (2011). "Development and manufacture of drug substances (chemical entities and biotechnological/biological entities)Q11", London: European medicines agency
- [2] Kroll, P. et al (2017), "Model- Based Methods in the Biopharmaceutical Process Lifecycle", Pharmaceutical Research, 34 (12), 2596–2613

© Copyright 2022 by Shenzhen Sieman Technology Co., Ltd. 版权所有，包括图表和图片。

AP-100在线分析仪及其补料模块:是西尔曼注册品牌下的在线分析仪及其补料模块. LIS软件: 是西尔曼注册品牌下的分析仪软件. AP-100: 仅用于质量控制/生产过程分析/科研实验.

<p>联系方式</p> <p>需了解更多关于我们产品和服务的信息，请访问我们的网站</p> <p><a href="http://www.siemantec.com">www.siemantec.com</a> or</p> <p><a href="http://www.siemanbio.com">www.siemanbio.com</a></p>	<p>深圳西尔曼科技有限公司</p> <p>深圳市宝安区松岗街道潭头社区芙蓉路9号旭生融和谷二期14号楼</p> <p>0755--23727863</p>
--	--