

使用BioAccord™ LC-MS对自动化高通量多并行Ambr®15微生物反应器系统进行过程中培养基监测

Yun Alelyunas, Charles Prochaska, Clint Kukla, Mark Wrona, Ying Qing Yu

Waters Corporation, Sartorius Stedim

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

仅供研究使用，不适用于诊断。

摘要

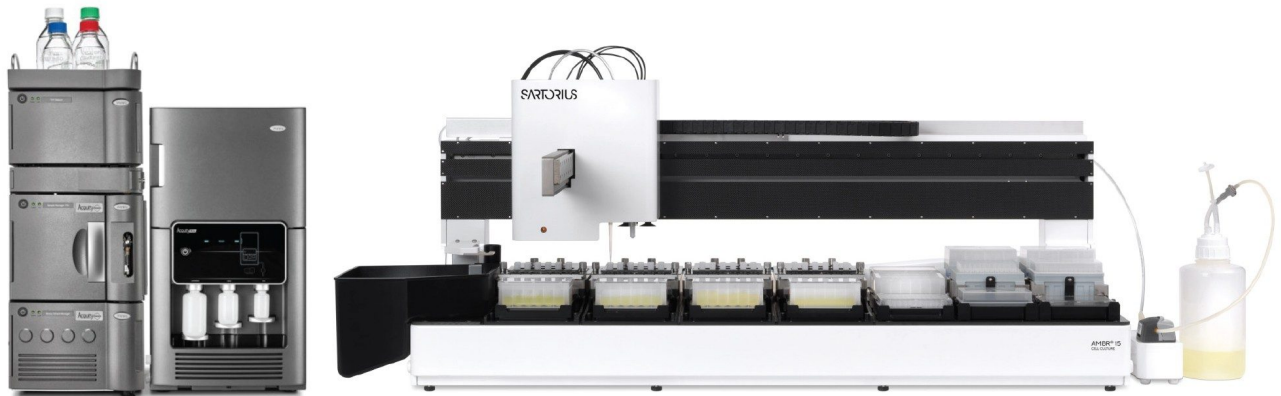
BioAccord™ LC-MS系统已用于分析来自Ambr®15生物反应器的细胞培养基样品。全面的LC-MS方法、工作流程和批处理分析软件使生物工艺工程师能够快速、轻松地运行和处理大量样品。多变量数据分析可以提供所有容器的成分和浓度差异的概览信息。当这些信息与其他工艺或产品相关的质量属性相结合时，将使生物工艺团队能够快速了解关键生物工艺参数对产品CQA的影响。

优势

- 易于操作的平台，可部署在生物工艺开发实验室中，用于对高通量自动化生物反应器系统进行快速和全面的细胞培养基分析
- 该平台支持培养基监测过程分析以及产品质量分析，可以通过完整或亚基蛋白质分析对糖谱、蛋白质修饰或变体进行检测。还可进一步考虑肽水平属性监测和游离寡糖分析

简介

细胞培养基为维持细胞健康和生长提供必需的营养物质和成分，并大幅提高生物治疗药物的产量和质量。生物工艺团队越来越需要对原始培养基、补料、补充剂和用过的细胞培养基进行监测，并在监测的同时将这些信息快速提供给工艺工程师。除了必需氨基酸、维生素和其他主要补料成分外，使用过的培养基中还含有数百种其他化合物和代谢物。在克隆选择和/或工艺优化期间，常规全面监测可以提供有关细胞培养性能的额外信息。本技术简报介绍了基于BioAccord LC-MS系统¹开发的细胞培养基监测方法，适用于对Ambr®15高通量生物反应器系统中的过程中样品进行常规筛选（图示1）。



图示1. BioAccord和Ambr® 15高通量生物反应器系统示意图

结果与讨论

在24通道Ambr® 15细胞培养生物反应器系统上，采用哺乳动物CHO分批补料工艺进行了延长14天的培养。使用不同的培养基配方和补料条件来提供不同范围的组分浓度。培养CHO细胞使用的基础细胞培养基和补料是赛多利斯的化学组分限定无血清培养基。从第三天开始，每天使用Ambr® 15自动液体处理器在容器（CS1:01（培养基1 - 补料1）、CS1:05（培养基2 - 补料2）和CS1:09（培养基1 - 补料3））中采集样品，然后进行细胞计数和消耗组分测定。在上样到BioAccord进行LC-MS分析之前，将培养基等分试样离心、过滤并使用0.1% FA以1:200的比例稀释滤液。之前已经介绍了使用精确质量数筛查工作流程的LC-MS采集的详细参数¹。所有数据均使用合规的

waters_connect™信息学平台采集和处理。

化合物是根据保留时间和质荷比(m/z)匹配的,使用内嵌的含有200多种化合物的细胞培养基库进行校准。数据查看面板如图1所示。在界面的左侧,工作流程按功能、化合物类别和/或转换路径分类显示,简化和帮助最终用户以逐步、系统的方式查看数据。如果需要其他信息或视图,可以对工作流程进行自定义。化合物汇总表(右上角)提供了响应列表和其他化合物相关信息,可以将这些信息导出并进行进一步的数据处理。底部面板显示当前所选化合物的检测峰(提取离子流色谱图)以及汇总图,显示其在所有进样中的趋势/水平。从这个趋势图可以很容易地看出一种化合物在批处理过程中的变化。

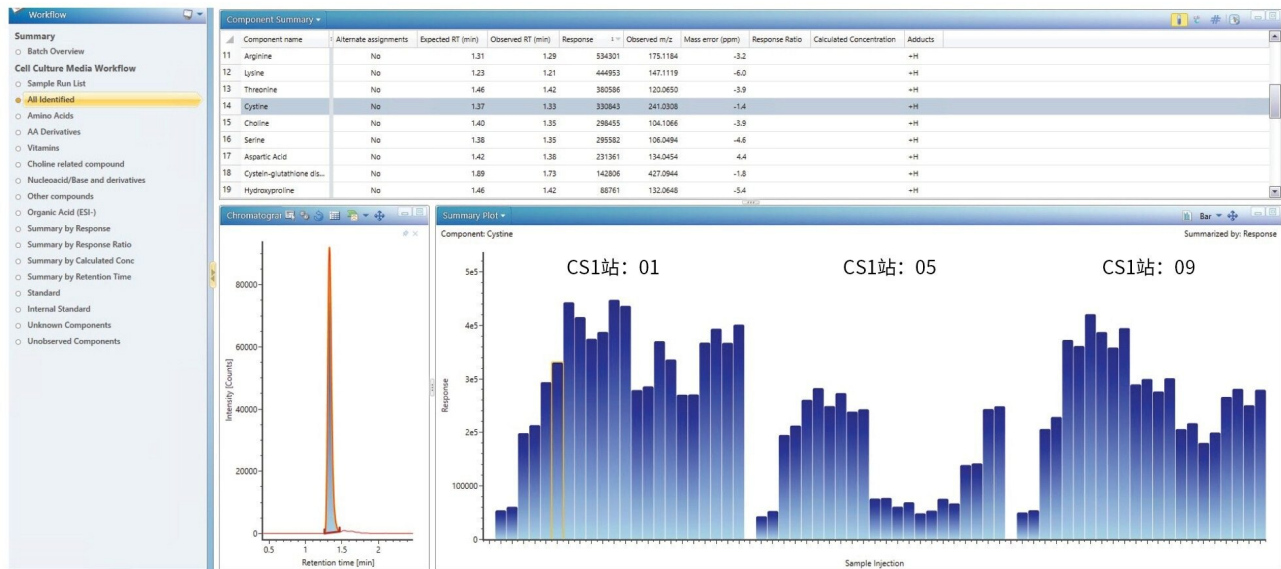


图1.waters_connect数据查看面板示例,显示了自定义工作流程、表格化的结果数据以及不同容器和采样时间下的胱氨酸响应值趋势图。

三个容器中代表性化合物在批处理过程中的趋势叠加图如图2所示。该图显示出一些化合物的响应值有变化,而其他化合物的响应值差异不大。例如,丙氨酸、脯氨酸和谷氨酰胺在不同容器的变化趋势相似。而与其他两个容器相比,天冬酰胺、胱氨酸和谷氨酸在容器CS1:05中表现出不同的趋势,表明起始培养基成分的影响比补料策略更大。



图2.三个不同容器中的代表性化合物的采样时间与响应值的叠加图。绿线：容器CS1:01培养基1 - 补料1，橙线：容器CS1:05培养基2 - 补料2，灰线：容器CS1:09培养基1 - 补料3。

使用多变量数据分析工具进行额外的批处理操作。这些生物反应器在采样时间内的代表性主成分分析(PCA)图如图3所示。PCA分析显示随着时间的推移，培养基成分的差异越来越大。最初，在第三天，三个容器的培养基成分均相似。随着培养过程的继续，容器CS1:01和CS1:09的培养基变化相似，而容器CS1:05则表现出非常不同的变化方式。该信息包含额外的批次比较分析，与其他工艺或产品相关的质量属性相结合时，能使生物工艺团队在生物工艺开发过程中快速了解具体信息。

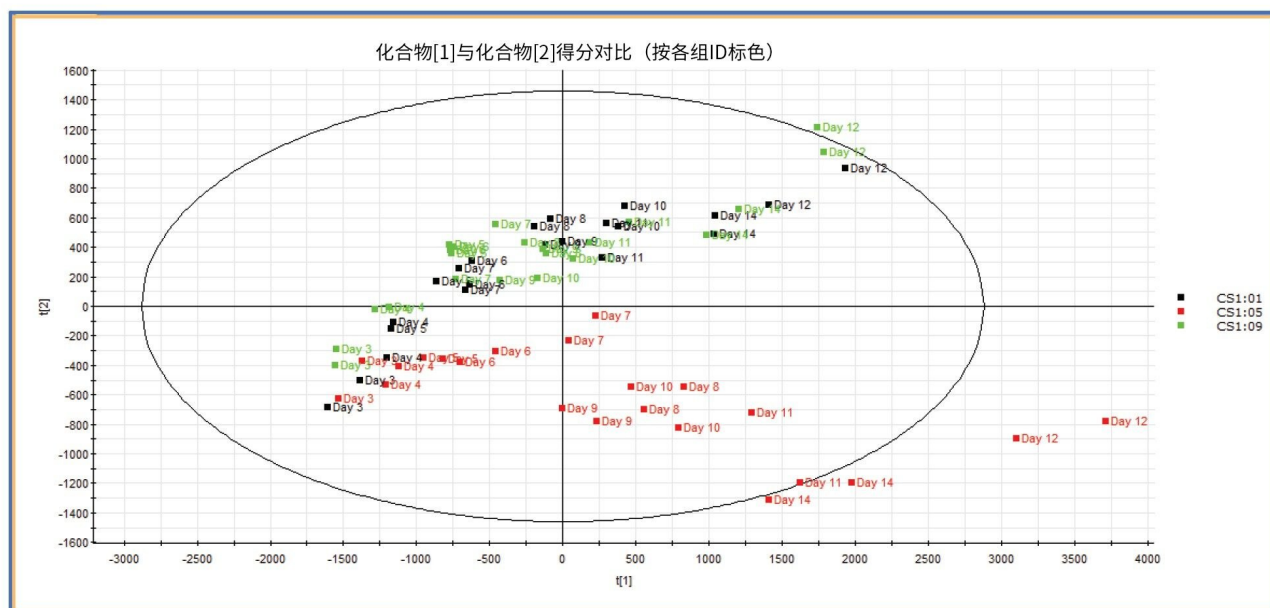


图3.生物反应器在采样时间内的PCA图。数据按容器名用相应的颜色表示，并标出对应的采样时间（天）。

结论

本研究介绍了用于分析Ambr®15生物反应器系统的细胞培养基样品的全面LC-MS方法和工作流程。使用Ambr®15多并行生物反应器系统和BioAccord LC-MS，可以在日常培养过程中对多个生物反应器进行培养基收集和LC-MS采集。用这种方法，分批补料过程将在大约两周内完成，同时也能完成LC-MS的培养基数据分析，并且可用于更详细的数据挖掘，尤其是获取与过程相关的理解。就方法设置简便和长期性能稳定性而言，BioAccord LC-MS系统简单易用，对于LC-MS经验有限的生物工艺工程师来说是额外的优势，可以借助该系统快速轻松地运行和处理大量样品。总体而言，基于LC-MS的Ambr® 15生物反应器样品的常规分析使生物工艺团队能够在生物工艺开发过程中快速了解具体信息。

参考资料

1. Alelyunas YW, Wrona MD, Chen W. 使用搭载ACQUITY Premier的BioAccord LC-MS系统监测生物工艺开发所用细胞培养基中的营养成分及代谢物, 沃特世应用纪要: [720007359ZH](#), 2021年9月.

致谢

1. Yun W. Alelyunas、Mark D. Wrona、Ying Qing Yu - 沃特世公司。
2. Charles Prochaska、Clint Kukla - Sartorius Stedim。

特色产品

生物制药领域专用的BioAccord LC-MS系统 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135005818>>

UNIFI科学信息系统 <<https://www.waters.com/134801648>>

waters_connect <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135040165>>

720007581ZH, 2022年3月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie](#) [设置](#)

沪 ICP 备06003546号-2

京公网安备 31011502007476号