·综述·

高通量微型生物反应器在生物制药行业中的应用

姚小员,裴　新,查鑫华,张　磊,季　宇
(百济神州(苏州)生物科技有限公司生物制药细胞培养工艺开发部,苏州 215123)

[摘要]　随着生物制药行业的快速发展,近年来高通量微型生物反应器系统得到较为广泛的应用。高通量微型生物反应器系统具有体积小、高通量、可放大性等优点,同时具有在线分析检测和过程反馈控制功能。目前,高通量微型生物反应器主要用于细胞株筛选、工艺优化及工艺表征等方面。其高通量结合实验设计开展实验研究,可大大缩短产品研发周期,提高工艺稳健性及产品质量可控性,加快研发项目进入临床及商业化的步伐。本文主要介绍了目前常见的几种高通量微型生物反应器系统,并以 Ambr 系统为例,介绍了高通量微型生物反应器系统在生物制药行业中的应用。

[关键词]　高通量微型生物反应器;Ambr 系统;工艺开发;工艺表征
[中图分类号]　R965　　[文献标志码]　A　　[文章编号]　1003－3734(2021)22－2075－08

Application of high-throughput miniature bioreactors in biopharmaceuticals

YAO Xiao-yuan, PEI Xin, ZHA Xin-hua, ZHANG Lei, JI Yu
(*BIO Cell Culture Process Development Department, BeiGene (Suzhou) Co., Ltd., Suzhou* 215123, *China*)

[**Abstract**]　With the rapid development of biopharmaceutical industry, high-throughput miniature bioreactor systems have been widely used in recent years. The high-throughput miniature bioreactor system has the advantages of small size, high-throughput and good scalability, as well as the capability of on-line analysis and feedback control. At present, it is mainly applied in cell line selection, process optimization and process characterization. High-throughput technologies combining with experimental design can shorten the product development timelines significantly, improve the process robustness and product quality control, and accelerate the delivery of projects into clinical and commercial phase. This review mainly describes several common high-throughput miniature bioreactor systems and describes their applications in the biopharmaceutical industry, using Ambr system as an example.

[**Key words**]　high-throughput miniature bioreactor; Ambr system; process development; process characterization

随着生物制药行业的快速发展及竞争加剧,生物制药研发面临的主要挑战在于如何尽快缩短药品开发周期,开发高效、稳健和高质量的生产工艺并降低生产成本,提高生物药品的可及性和可负担性。目前大部分企业主要使用高通量技术、平台工艺以及一次性生产技术等来加速产品开发[1-3]。其中高通量技术可同时开展多组实验进行实验设计(design of experiment,DOE),可缩短工艺开发时间且得到较好的实验效果。近年来,高通量微型生物反应器已在生物制药行业得到广泛应用,可应用于细胞株筛选、培养基与工艺开发及工艺表征等各个阶段。高通量微型生物反应器系统在早期工艺开发阶段可使用 DOE 实验进行高通量工艺研究,缩短工艺开发时间并降低人力物力成本,加速晚期临床阶段工艺优化与工艺表征,推进生物药物的快速发展[2-4]。本文主要对高通量微型生物反应器系统进

[作者简介]　姚小员,女,硕士研究生,研究方向:细胞培养工艺开发。联系电话:(0512)85882916,E-mail: xiaoyuan.yao@beigene.com。
[通讯作者]　季宇,男,博士研究生,研究方向:生物制药工艺开发与生产。联系电话:(0512)85882828,E-mail: yu.ji@beigene.com。

行介绍,并以 Ambr 系统为例,对高通量微型生物反应器系统在生物制药行业中的应用进行综述。

1 高通量微型生物反应器开发进展

传统细胞培养工艺开发一般在摇瓶及台式生物反应器上进行,对多个候选克隆进行筛选评估,同时对培养基及培养条件,如 pH、温度、溶氧(dissolved oxygen,DO)、接种密度及补料策略等进行优化。上游工艺开发时间平均长达 9 ~ 12 个月,周期长且成本高[5]。传统反应器需要人工完成罐体清洗、安装、灭菌、加料补料、取样等繁杂操作,需要投入大量人力物力并伴随可能的人为操作失误风险[6-8]。为了解决传统细胞培养工艺开发的不足、加速产品研发,市场上研发出了不同的高通量微型生物反应器系统。早期商业化的高通量微型生物反应器产品主要有 Bioprocessors 公司的 SimCell 卡式微型反应器系统、Applikon 公司的 24 深孔板、Excellgene 公司的卫星 TubeSpin、Hexascreen 公司的微型反应器、Pall 公司的 Micro-24 微孔板式反应器及 m2p labs 公司的 Biolector 系列微型反应器等[5-12]。由于上述微型反应器大多是基于微孔板、摇管及微流控技术发展起来的,在几何学设计、在线监测及过程控制上仍与传统搅拌式反应器存在一些差异,如 TubeSpin 无法实现实时测量和控制 pH 及 DO,SimCell 和 Biolector 微型反应器系统无搅拌等与传统反应器类似的设计特征等[6-7,9]。

将传统搅拌反应器微小型化是开发高通量微型生物反应器的另一种方法,在此基础上发展起来的高通量微型生物反应器系统包括 Eppendorf 公司的 DASGIP 平行生物反应器系统、Foagle Nanotech 公司的 Biopod 反应器系统及 Sartorius 公司的 Ambr 15 及 Ambr 250 系统等[6-7]。这类微型反应器不仅体积小、通量高、可实时采集和控制过程中的工艺参数,且几何学设计与传统反应器更接近,具备良好的平行性与放大性,可同时开展大量平行实验,可大大缩短工艺开发周期。郭玉蕾等[5]报道利用高通量微型生物反应器完成早期工艺开发仅需 3 ~ 6 个月。

2 高通量微型生物反应器介绍

目前市场上常见的高通量微型生物反应器系统主要有 SimCell, Micro-24, Micro-Matrix, Biolector, DASGIP, Ambr 15 及 Ambr 250 等,不同微型反应器系统具有不同的特点,其中 SimCell 微型反应器系统包括 5 个培养室,每个培养室含有 42 个卡式微型反应器模块,每个模块有 6 个总体积 < 800 μL 独立控制的微型反应器(培养体积为 300 ~ 700 μL),故一台 SimCell 系统理论上最多可同时运行 1 260 个微型反应器[9]。每个培养室可独立控制温度、相对湿度及通气量,可在线测量细胞密度、pH 及 DO 等参数。SimCell 微型反应器可用于克隆筛选及早期工艺优化[9-10]。SimCell 系统的显著优势为超高通量和超微体积,但小体积无法满足常规离线分析需求,且无搅拌桨,不能很好地拟合大规模反应器。

Pall 公司的 Micro-24 系统属于摇床式系统,含有 24 个工作体积为 5 ~ 7 mL 的 24 微孔板式反应器,每个微反应器均能独立控制和监测温度、DO 及 pH 等参数,其小体积与高通量使其成为细胞培养研发的有效工具,且结果具有可放大性。但 Micro-24 系统缺乏自动化功能,需要手动取样和补料[11]。Chen 等[12]对 Micro-24 系统进行了系统性评估,研究表明 Micro-24 系统与 3 L 台式反应器细胞培养结果可比,可作为缩小模型应用于工艺开发,并通过采取相应措施解决应用中遇到相关挑战,如:由于系统设计及批次间差异可能导致孔板内气体分布不匀、通气时易起泡等问题。2014 年 Applikon 公司推出新一代的摇床式 micro-Matrix 系统,在 Micro-24 原有功能的基础上,增加了独立液体补加系统[4],可支持补料分批、连续及灌流工艺开发。

m2p labs 公司的 Biolector 系列微型反应器是基于微孔板和非侵入式光学传感器的高通量微型生物反应器,工作体积为 0.8 ~ 2.4 mL,能实时在线监控多种参数,如 pH、DO、温度及生物量等,通过选择不同的孔板实现 24 ~ 96 组平行实验[6]。

Eppendorf 公司的 DASGIP 平行生物反应器系统,单个集成的控制器可控制多个玻璃或一次性生物反应器的平行操作,培养体积范围为 35 ~ 4 000 mL,每台反应器均可独立控制温度、DO、pH 及液位等参数,可调整蠕动泵速度较精确控制补料量,实现批次流加、连续及灌流培养模式,可整合第三方分析仪器、DOE 及远程控制等功能。其中 DASbox 一次性罐体是为 DASGIP 平行生物反应器系统研发的一次性生物反应器,工作体积为 60 ~ 250 mL, 4 个反应器构成一个模块,可扩展至 24 个罐体。该平行系统适用于工艺研发,具有较好的重复性及可放大性[4]。

近年来,Sartorius 公司开发的 Ambr 系统在制药行业得到较为广泛的关注。Ambr 系统由一次性反应器罐体、自动化工作站及操作软件 3 部分组成,包

括 Ambr 15 和 Ambr 250(见图 1)。Ambr 15 工作体积为 10 ~ 15 mL,一次可运行 24 ~ 48 个生物反应器,具有搅拌桨和独立通气管路。除温度和转速由工作站统一控制外,其他参数如 pH 及 DO 均可独立控制。基于高度自动化的机械臂,Ambr 15 系统可自动完成取样及补液操作。由于 Ambr 15 系统培养体积较小(10 ~ 15 mL),限制了培养过程中取样频率及收获体积,无法为下游纯化及制剂分析提供足够多的样品。此外,细胞培养过程中取样、补料及补碱等操作可能会引起 Ambr 15 系统在线 DO、pH 及温度的波动[6,13]。



图 1 Ambr 高通量微型生物反应器

Ambr 250 是 Ambr 15 的升级产品,能独立运行 12 ~ 24 个一次性生物反应器,工作体积为 100 ~ 250 mL,可满足后续纯化和样品分析需求,可独立控制温度和转速,有 4 条补料管路连接每个反应器,可实现分批补料(10 uL ~ 10 mL) 或连续流加(流速范围为 20 nL·h^{-1} ~ 20 mL·h^{-1}),实现细胞培养和微生物发酵不同工艺的需求。Ambr 250 一次性反应器含有双层斜三叶桨,嵌合 4 个挡板以促进液体混合,与传统生物反应器有类似的几何尺寸及流体力学性质,从而保证 Ambr 250 细胞培养的微环境在一定程度上与传统反应器更接近,工艺容易放大。Li 等[14]已对 Ambr 系统进行深入表征,包括流体动力学、传质、湍动耗散以及气泡大小分布等,建立了 Ambr 15 及 Ambr 250 的流体动力学模型。

综上,Ambr 系统具有高通量、自动化及体积小等优势,且罐体几何学设计如高径比、桨叶设计等均与经典搅拌反应器类似,可实时监测和控制工艺过程中的各个参数,具有良好的平行性与放大性。Ambr 系统软件具备较高效的数据记录、管理和分析能力,可以在工艺开发和晚期临床阶段执行 DOE 和数据分析。目前 Ambr 系统在生物制药行业中得到了较为广泛的应用,工业用户包括 Biogen 公司、BMS 公司、Genentech 公司、KBI 公司、Merck 公司、MedImmune 公司及 UCB 公司等制药公司[2],故本文后续主要以 Ambr 15 及 Ambr 250 为例介绍高通量微型生物反应器在生物制药行业中的应用。

3 高通量微型生物反应器在生物制药行业中的应用

高通量微型生物反应器具有高通量、高自动化及可放大性等特点,可大大提高工艺研发效率,不仅可以用于克隆筛选与评估、培养基及早期工艺开发,也可用于临床晚期阶段的工艺优化及工艺表征(见图 2)。

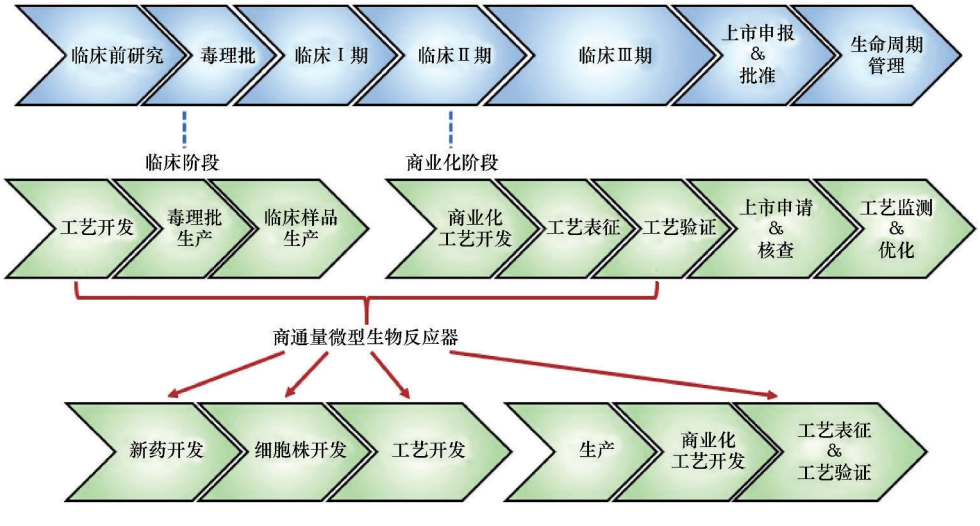
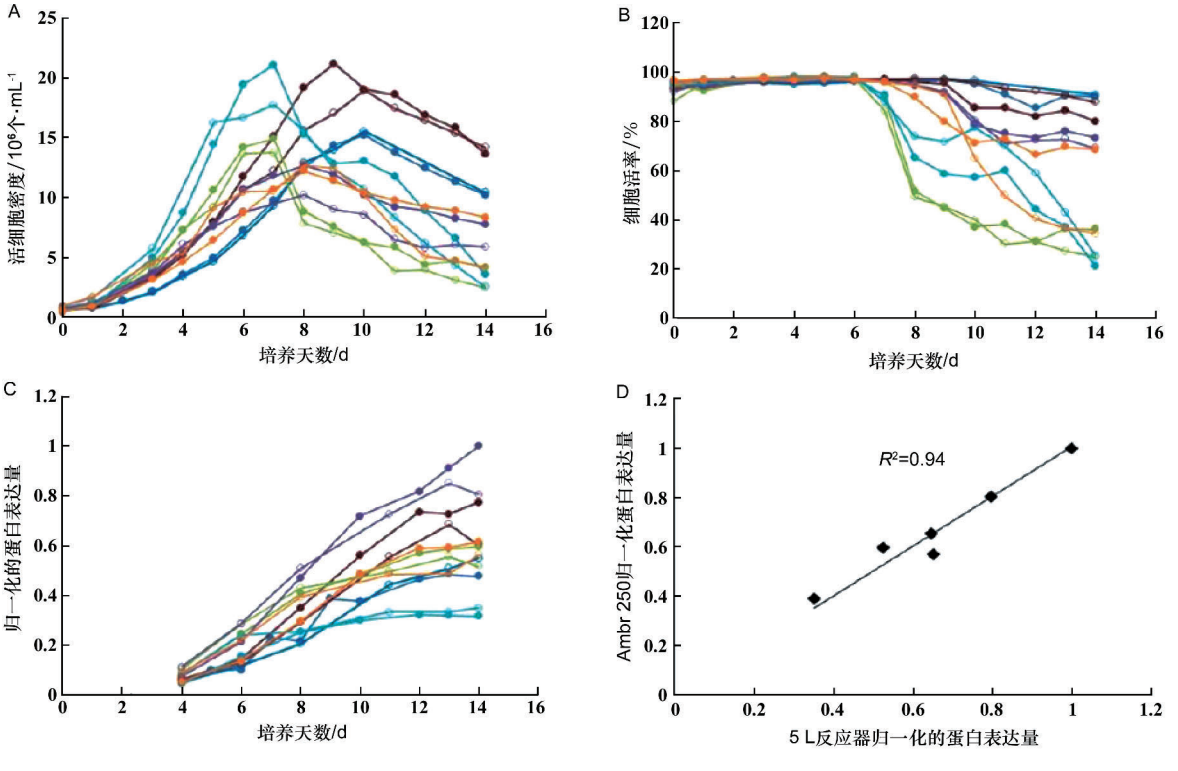


图 2 高通量微型生物反应器在药品生命周期中的应用[6]

3.1　克隆筛选与培养基开发　细胞株筛选要先把目的基因整合到基因组中，而这个过程是随机的，因此，转染后的每个细胞表现各异，需进行大量克隆筛选以得到最终的高产稳定细胞株。一般使用微孔板等进行早期高通量克隆筛选，然后在 24 深孔板、摇管或摇瓶中补料分批培养进行进一步筛选。从 24 深孔板、摇管或摇瓶中筛选得到的表现较好的细胞株在放大至反应器时会出现不一致情况，这是由于部分高表达克隆不具备可放大性，另外这些培养容器不能监控 pH 与 DO 等关键参数，培养微环境与台式反应器相差甚远，不能很好地预测高产克隆在反应器规模上的表现[13]。传统反应器由于通量低且运行成本高，评估的克隆数量有限，也不是理想的克隆筛选工具[13]。为降低细胞株在工艺放大时出现异常风险，可使用高通量 Ambr 系统进行筛选评估，其具有较好的预测性和可放大性，是高效可靠的克隆筛选工具。此外，可通过整合的克隆筛选软件进行克隆筛选排序评分，为候选克隆的选择提供指导。

Mangalampalli 等[15]采用高通量筛选设备 Clonepix 和高通量 Ambr 15 系统建立中国仓鼠卵巢（chinese hamster ovary，CHO）细胞二氢叶酸还原酶（dihydrofolate reductase，DHFR）系统细胞株开发平台。Clonepix 中筛选得到的高表达克隆细胞株在 Ambr 15 中进行进一步评估。该研究表明，Ambr 15 筛选到的稳定克隆表达量达 2.5 ~ 3.0 g·L^{-1}，Clonepix 与 Ambr 15 的有效整合，将细胞株载体构建到终克隆选择缩短至 3 个月，大大加速了早期克隆筛选。Velez-Suberbie 等[16]在 Ambr 15 中采用补料分批培养进行克隆和分子筛选，研究表明 Ambr 15 细胞生长和重组蛋白表达与 1 L 搅拌反应器结果一致，Ambr 15 可用于菌种及分子的快速筛选及早期工艺优化，且具有较好的平行性和可重复性。Xu 等[17]也研究了 Ambr 250 作为克隆筛选工具的适用性，发现不同细胞株在 Ambr 250 中的细胞生长代谢、蛋白表达及质量与 5 L 反应器可比（见图 3），说明 Ambr 系统作为细胞克隆筛选工具有良好的预测性及可放大性。



A：Ambr 250 和 5 L 生物反应器的细胞生长曲线；B：Ambr 250 和 5 L 生物反应器的细胞活率曲线；C：Ambr 250 和 5 L 生物反应器的蛋白表达量曲线；D：Ambr 250 和 5 L 生物反应器第 13 d 蛋白表达量的等价性拟合图。用相同的基础培养基和补料培养基，相同的接种密度、pH、DO 和温度设置，将 6 个克隆分别于 Ambr 250 和 5 L 生物反应器中进行培养。相同的颜色代表同一个克隆，Ambr 250（n = 1，空心标志），5 L 生物反应器（n = 2，实心标志，取平均值）

图 3　在 Ambr 250 和 5 L 反应器中对细胞系 C 的 6 个克隆进行克隆评估[17]

培养基开发是提高产量、质量及降低生产成本的关键手段之一。高通量细胞培养设备可用于培养基的高通量快速筛选,优化培养基的关键组分。Velugula-Yellela 等[18]使用 Ambr 15 评估了 5 种化学限定的 CHO 培养基(Dynamis, ProCHO5, PowerCHO2, EX-Cell Advanced, OptiCHO media)及 5 种消泡剂(204, C, EX-Cell Advance, SE-15, Y-30)对细胞生长和抗体表达的影响,并得到较优的培养基及消泡剂组分。Grimm 等[19]利用 Ambr 15 及其整合的 MODDE DOE 软件对 20 种基础培养基进行 DOE 混料实验以优化培养基,DOE 分析结果显示最优培养基配方为 44% M1 +9% M2 +47% M4。

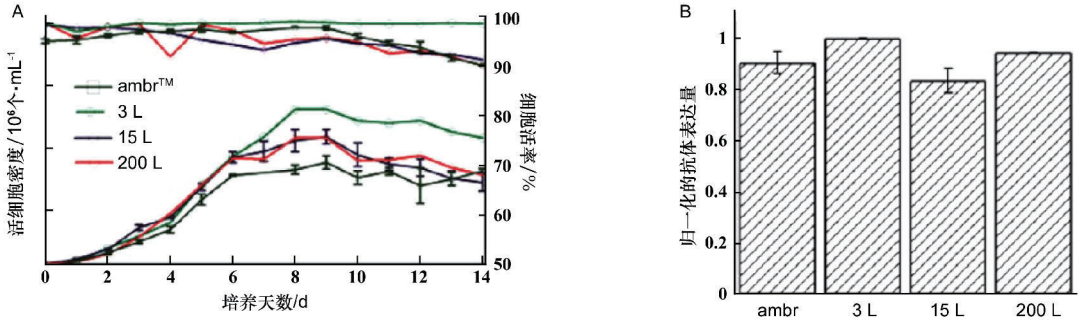
3.2 工艺开发 Yau 等[20]使用 Ambr 15 反应器同步运行 24 个实验条件考察接种密度、pH 及 DO 3 个关键工艺参数,结果显示相同条件下的反应器在细胞生长、代谢以及蛋白表达方面表现具有高度一致性,不同条件下的反应器则有明显区别,大大提高了工艺优化的效率。Gillmeister 等[21]分别在摇瓶和 Ambr 15 反应器中测试一种新开发的培养基,结果发现 Ambr 15 反应器中的细胞活率和蛋白产量相比于摇瓶均有明显下降。摇瓶中表达量达 3 $g\cdot L^{-1}$,而 Ambr 15 反应器的产量仅为 1.5 $g\cdot L^{-1}$。经过分析,Ambr 15 反应器中产量和细胞活率的下降可能是由于乳酸浓度增加引起的。为了研究 Ambr 15 反应器中乳酸浓度升高的原因,考察了转速、通气和 pH 对乳酸积累的影响。结果显示,通气和 pH 控制策略对乳酸积累有统计学意义上的影响,其中 pH 影响显著。使用优化后的条件在 Ambr 15 中运行,达到了与摇瓶培养一致的细胞活率和表达水平。

高通量微型生物反应器中进行的工艺优化需放大至生产规模反应器中,因此评价设备和工艺的可放大性也尤为重要。Frédéric 等[22]将在 Ambr 15 中开发的细胞培养工艺分别放大至 2 L 反应器和 80 L,400 L Zeta 不锈钢生物反应器,结果显示 Ambr 15 与不同规模的反应器在细胞生长、代谢、蛋白表达及产品质量属性上均比较一致。这一结果显示 Ambr 15 反应器具备较好的可放大性。

随着生产工艺需求和设备的更新改进,灌流工艺也开始使用高通量反应器进行工艺开发。Kreye 等[23]利用重力沉降的方法使细胞停留在反应器底部,将上清更换为新鲜培养基,从而实现半连续的灌流模拟工艺,利用该方法培养 GlycoExpress (GEX)细胞和 CHO 细胞,细胞密度分别达到 20×10^6 $cells\cdot mL^{-1}$ 和 30×10^6 $cells\cdot mL^{-1}$,与 1 L 反应器 ATF 系统相比,产品质量属性比较一致。但这种操作细胞沉降时间需要约 40 min,会引起乳酸的增加以及表达量的降低,且这种换液方式在细胞密度更高时(50×10^6 $cells\cdot mL^{-1}$ ~ 100×10^6 $cells\cdot mL^{-1}$),细胞分离效率会明显降低。Gagliardi 等[24]为了解决重力沉降时细胞密度越高细胞分离效率越低的问题,采用离心的方法来实现 Ambr 15 灌流工艺开发。通过离心机将反应器中的细胞与旧培养基分离,同时加入新鲜培养基,CHO 细胞的密度能达到 90×10^6 $cells\cdot mL^{-1}$。Ambr 反应器厂家已研发出 Ambr 15 二代系统[25],可以进行灌流工艺开发,配备快速换液装置和专用离心机,可通过机械臂实现无菌环境下的换液操作,所有反应器完成一次换液仅需 12 min,大大提高了实验效率,且降低了换液操作对细胞带来的损伤和操作风险。

3.3 工艺表征 细胞培养工艺表征的目的是研究关键操作参数(critical process parameter, CPP)与细胞培养关键性能指标如细胞生长、产品表达及最终产品关键质量属性(critical quality attribute, CQA)等之间的关系,来确定各关键操作参数的可接受范围,并证明工艺的稳健性[26-27]。传统上,一般使用 1 ~ 10 L 规模的台式反应器进行大量的 DOE 实验以评估各个参数的主效应及交互作用影响,这需要投入大量的时间、人力和资源。高通量 Ambr 系统作为缩小模型进行工艺开发和工艺表征已有不少研究。Biogen 公司、BMS 公司、Genentech 公司、KBI 公司、Merck 公司、MedImmune 公司及 UCB 公司均已报道了 Ambr 系统与传统反应器的可比性研究[2-3,6,28-32]。

2012 年 Genentech 公司考察了 Ambr 15 系统作为 2 L 台式反应器的缩小模型(scale-down model, SDM),作者发现以等单位体积功率(power/volume, P/V)和等单位体积气体流速(gas flow rate per culture volume, VVM)进行缩小时,Ambr 系统 DO 变化趋势及细胞培养性能与 2 L 反应器一致[28]。由于与传统生物反应器物理特性的不同(桨叶长度),相同搅拌叶尖线速度(tip speed, TS)条件下,Ambr 15 的 P/V 会比传统反应器高 10 ~ 12 倍,故 TS 一般不适合作为 Ambr 15 的 SDM 策略[2,29]。2014 年 KBI 公司的 Rameez 等[6]研究表明,在 Ambr 15 中采用与商业化生产相同工艺时,其表现与 3 L, 15 L 及 200 L 反应器一致(见图 4)。在 Ambr 15 中可成功重现与传统生物反应器一致的 pH、DO 及温度变化趋势。

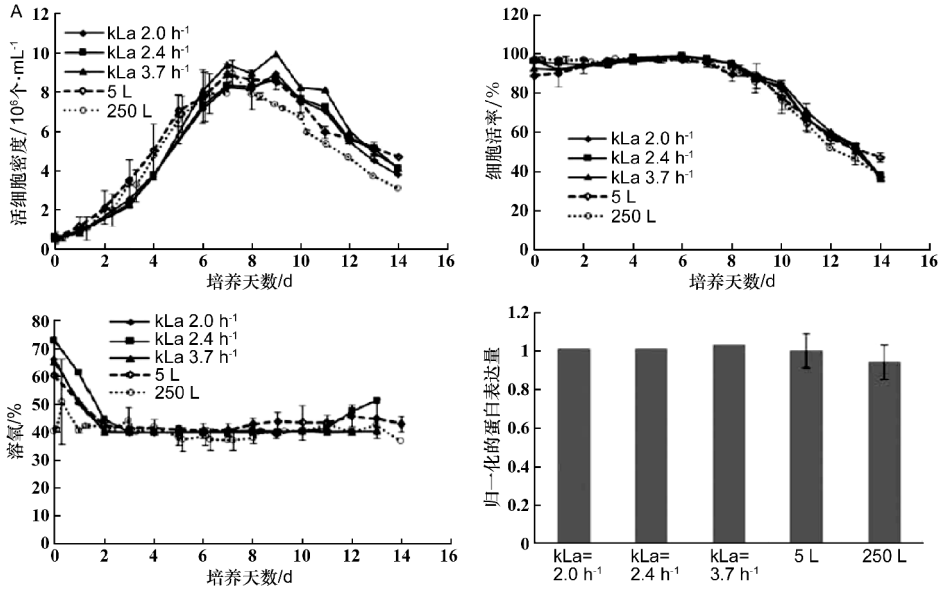


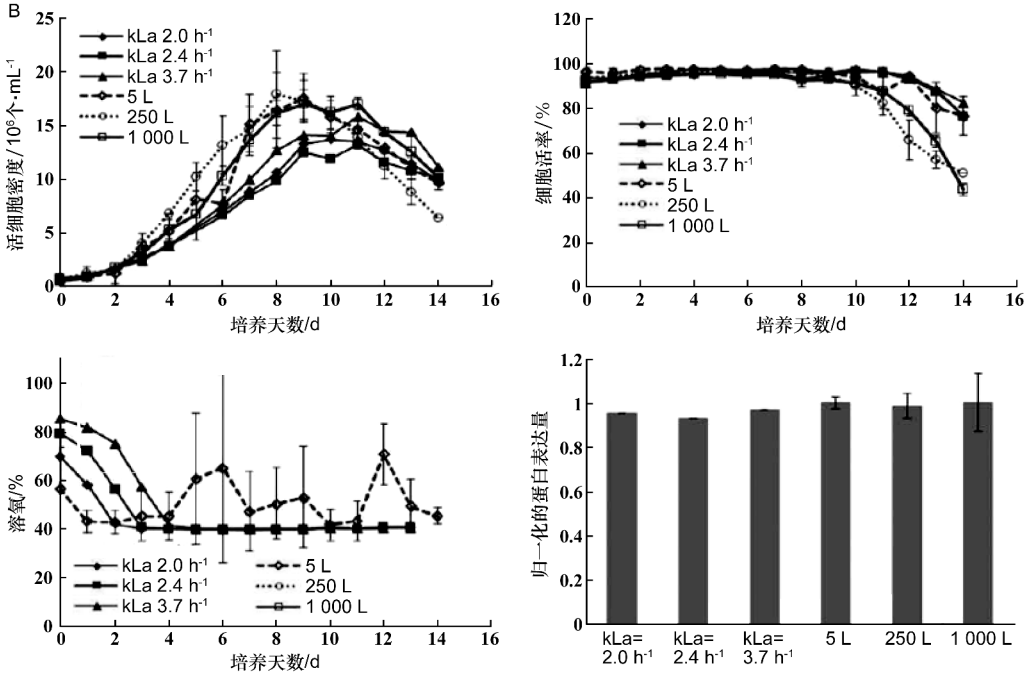
A：活细胞密度（底部曲线）和细胞活率（顶部曲线）随时间变化图；B：收获时归一化的抗体表达量。3 L，15 L为玻璃生物反应器，200 L为一次性生物反应器。Ambr 15和3 L，15 L，200 L生物反应器中培养结果的比较，Ambr 15（$n=3$），3 L（$n=1$），15 L（$n=4$），200 L（$n=1$），图中误差线显示的是标准差

图4　不同规模间细胞生长与蛋白表达量比较[6]

2015年Biogen公司的Janakiraman等[30]首次使用Ambr 15进行工艺表征并开发了一个控制策略，Ambr 15作为SDM，其性能与5 L台式反应器及15 000 L生产规模可比。然而Ambr 15系统作为一种大规模生产生物反应器的SDM应用于工艺表征仍然受到质疑，这是由于Ambr 15培养体积小且与大规模反应器几何尺寸、控制策略等方面存在一定差异。而Ambr 250与大规模反应器有更好的几何相似性，更适合作为SDM用于工艺表征。2013年Merck公司首次报道了对Ambr 250进行SDM表征研究，结果显示其与台式反应器和中试规模反应器表现类似。Ambr 250可作为大规模反应器的SDM应用于工艺开发、工艺优化及工艺表征等[3]。2015年该团队还报道了另一个CHO细胞以等P/V建立SDM，Ambr 250和3 L，650 L，2 000 L规模之间细胞生长代谢、表达及产品质量均具有可比性[31]。

2015年Tai等[32]研究表明Ambr 250与DOE软件结合使用可作为一个快速有效的平台用于工艺开发和工艺表征。该研究中使用24个Ambr 250一次性反应器执行多个因子筛选设计实验，用于表征大肠杆菌表达重组蛋白发酵工艺，并与2 L，22 L及415 L反应器进行比较。2017年Xu等[17]对Ambr 250的SDM标准进行了系统全面的研究。为确定最佳的操作条件，分别使用VVM，P/V及氧气传质系数（oxygen mass transfer coefficient，KLa）等不同SDM标准来评估不同CHO细胞在Ambr 250，5 L，250 L和1 000 L不同规模反应器中的细胞培养性能。该研究表明KLa是Ambr 250可靠的缩小策略，使用KLa进行工艺缩小时，Ambr 250细胞生长及蛋白表达趋势与5 L及1 000 L反应器类似（见图5），而以P/V及VVM作为缩小策略时所定义的气体流速及搅拌均不适合。





A:细胞株 A 在不同 KLa 条件下的活细胞密度、细胞活率、DO 和表达量,Ambr 250(n = 1),5 L(n = 3),250 L(n = 2);B: 细胞株 B 在不同 KLa 条件下的活细胞密度、细胞活率、DO 和表达量,Ambr 250(n = 1),5 L(n = 6),250 L(n = 2),1 000 L(n = 3)。Ambr 250 通过设置不同的底通空气速率和表通空气速率得到不同的 KLa。在 Ambr 250,5 L,250 L 和 1 000 L 生物反应器中使用相同的培养条件,包括接种密度、pH、DO、温度、基础培养基和补料培养基。图中误差线显示的是平行组数据平均值的标准差

图 5 基于 Kla 的缩小模型开发[17]

Ambr 系统可作为高效的 SDM 应用于工艺开发与工艺表征,能显著加快工艺开发和工艺表征过程。Sandner 等[2]认为 Ambr 系统作为商业化生产工艺的 SDM 来进行工艺表征仍面临一些挑战。首先,SDM 标准在 Ambr 和大规模生物反应器间可能不是可比的,需要对 Ambr 系统进行更详细更有针对性的表征研究,并采用新的 SDM 策略。其次,需要采用更合适的风险评估及统计分析软件来解决高通量实验设计及数据分析的瓶颈。最后,需要认识到并非所有的工艺都可利用 Ambr 系统建立 SDM,要充分了解设备的限制以及相关的 CPP 及 CQA。

4 总结

生物制药行业的快速发展驱动了高通量微型生物反应器的大力发展,高通量微型生物反应器可用于快速推进克隆筛选和工艺优化以及工艺表征等,用更低的培养基及劳动力成本并行开展大量实验来探索更广的工艺参数,提高工艺稳健性以及产品质量可控性,大大缩短产品研发周期,加速产品上市,推进生物制药的快速发展,增强生物药品的可及性。

高通量自动化微型反应器须具备操作简单、体积小、高通量、高自动化、可放大性及较广的适用性等特点。目前市场常见的高通量微型生物反应器在通量、几何构造、流体力学性质、在线检测与反馈控制能力以及运行成本等方面各有优缺点。我们需要了解设备本身的限制,没有一种高通量微型反应器在保持与大规模反应器一致性能的同时能够解决工艺小型化中遇到的所有挑战。我们需要根据实际需求选择适宜的高通量微型生物反应器,弄清高通量微型生物反应器与大规模反应器之间的差异以及对工艺性能的潜在影响,从而建立一个高效可靠的高通量上游工艺开发平台。

[参 考 文 献]

[1] SHUKLA AA, GOTTSCHALK U. Single-use disposable technologies for biopharmaceutical manufacturing[J]. *Trends Biotechnol*, 2013, 31(3): 147 - 154.

[2] SANDNER V, PYBUS LP, MCCREATH G, *et al*. Scale-down model development in ambr systems: an industrial perspective [J]. *Biotechnol J*, 2019, 14(4): e1700766.

[3] BAREITHER R, BARGH N, OAKESHOTT R, *et al*. Automated disposable small scale reactor for high throughput bioprocess development: a proof of concept study [J]. *Biotechnol Bioeng*,

2013, 110(12): 3126 - 3138.
[4] 焦鹏, 陈必强. 新一代生物工艺研发与制造技术及高通量微小型生物反应器[J]. 中国工程科学, 2016, 18(4): 44 - 50.
[5] 郭玉蕾, 唐亮, 孙瑞强, 等. 高通量微型生物反应器的研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2018, 38(8): 69 - 75.
[6] RAMEEZ S, MOSTAFA SS, MILLER C, *et al*. High-throughput miniaturized bioreactors for cell culture process development: reproducibility, scalability, and control [J]. *Biotechnol Prog*, 2014, 30(3): 718 - 727.
[7] SHUKLA AA, RAMEEZ S, WOLFE LS, *et al*. High-throughput process development for biopharmaceuticals [J]. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2018, 165: 401 - 441.
[8] AMANULLAH A, OTERO JM, MIKOLA M, *et al*. Novel micro-bioreactor high throughput technology for cell culture process development: reproducibility and scalability assessment of fed-batch CHO cultures[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2010: 106(1): 57 - 67.
[9] LEGMANN R, SCHREYER HB, COMBS RG, *et al*. A predictive high-throughput scale-down model of monoclonal antibody production in CHO cells [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2009, 104(6): 1107 - 1120.
[10] LEGMANN R, BENOIT B, FEDECHKO RW, *et al*. A strategy for clone selection under different production conditions[J]. *Biotechnol Prog*, 2011, 27(3): 757 - 765.
[11] WARR S, BETTS J, AHMAD S, *et al*. Streamlined process development using the Micro24 Bioreactor system[J]. *BMC Proc*, 2013, 7(Suppl 6): S1 - S3.
[12] CHEN A, CHITTA R, CHANG D, *et al*. Twenty-four well plate miniature bioreactor system as a scale-down model for cell culture process development[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2009, 102(1): 148 - 160.
[13] KONDRAGUNTA B, DREW JL, BRORSON KA, *et al*. Advances in clone selection using high-throughput bioreactors[J]. *Biotechnol Prog*, 2010, 26(4): 1095 - 1103.
[14] LI XH, SCOTT K, KELLY WJ, *et al*. Development of a computational fluid dynamics model for scaling-up ambr bioreactors[J]. *Biotechnol Bioprocess Eng*, 2018, 23(6): 710 - 725.
[15] MANGALAMPALLI V, WYCUFF D, CHEN M, *et al*. CHO-DHFR cell line development platform: Application of Clonepix and Automated Mini Bioreactor (AMBR) technologies to meet accelerated timelines[J]. *BMC Proc*, 2015, 9(Suppl 9):S52.
[16] VELEZ-SUBERBIE ML, BETTS JPJ, WALKER KL, *et al*. High throughput automated microbial bioreactor system used for clone selection and rapid scale-down process optimization[J]. *Biotechnol Prog*, 2018, 34(1): 58 - 68.
[17] XU P, CLARK C, RYDER T, *et al*. Characterization of TAP Ambr 250 disposable bioreactors, as a reliable scale-down model for biologics process development[J]. *Biotechnol Prog*, 2017, 33(2): 478 - 489.
[18] VELUGULA-YELLELA SR, WILLIAMS A, TRUNFIO N, *et al*. Impact of media and antifoam selection on monoclonal antibody production and quality using a high throughput micro-bioreactor system[J]. *Biotechnol Prog*, 2018, 34(1): 262 - 270.
[19] GRIMM C, KUSSER W, LEE B, *et al*. Media optimization for CHO fed-batch processes using a DoE approach in automated high-throughput single use ambr15 bioreactors[J]. *BMC Proc*, 2015, 9(Suppl 9): S15.
[20] YAU SY, LEE K, ZORO B. Steady state and dynamic control performance of the ambr™ automated micro bioreactor system in a CHO cell batch culture[J]. *Drug Discov Today*, 2011, 16(23 - 24): 1093.
[21] GILL M, EISTER M, BUNDY M. Bioreactor process optimization of the Ambr 15 for an IgG producing CHO cell line[C]. Cell culture engineering conference, 2018.
[22] DELOUVROY F, SIRIEZ G, TRAN A, *et al*. Ambr™ Mini-bioreactor as a high-throughput tool for culture process development to accelerate transfer to stainless steel manufacturing scale: comparability study from process performance to product quality attributes[J]. *BMC Proc*, 2015, 9(Suppl 9): S78.
[23] KREYE S, STAHN R, NAWRATH K, *et al*. A novel scale-down mimic of perfusion cell culture using sedimentation in an automated microbioreactor (SAM)[J]. *Biotechnol Prog*, 2019, 35(5): e2832. DOI:10.1002/btpr.2832.
[24] GAGLIARDI TM, CHELIKANI R, YANG Y, *et al*. Development of a novel, high-throughput screening tool for efficient perfusion-based cell culture process development [J]. *Biotechnol Prog*, 2019, 35(4): e2811.
[25] REES-MANLEY A. Evaluation of a small-scale perfusion mimic for intensified processes[J]. *Genet Eng Biotechnol News*, 2019, 39(12): 52 - 54.
[26] LI F, HASHIMURA Y, PENDLETON R, *et al*. A systematic approach for scale-down model development and characterization of commercial cell culture processes[J]. *Biotechnol Prog*, 2006, 22(3): 696 - 703.
[27] HAKEMEYER C, MCKNIGHT N, ST JOHN R, *et al*. Process characterization and design space definition [J]. *Biologicals*, 2016, 44(5): 306 - 318.
[28] HSU WT, AULAKH RP, TRAUL DL, *et al*. Advanced microscale bioreactor system: a representative scale-down model for bench-top bioreactors[J]. *Cytotechnology*, 2012, 64(6): 667 - 678.
[29] NIENOW AW, RIELLY CD, BROSNAN K, *et al*. The physical characterisation of a microscale parallel bioreactor platform with an industrial CHO cell line expressing an IgG4[J]. *Biochem Eng J*, 2013, 76: 25 - 36.
[30] JANAKIRAMAN V, KWIATKOWSKI C, KSHIRSAGAR R, *et al*. Application of high-throughput mini-bioreactor system for systematic scale-down modeling, process characterization, and control strategy development[J]. *Biotechnol Prog*, 2015, 31(6): 1623 - 1632.
[31] BAREITHER R, GOLDFELD M, KISTLER C, *et al*. Automated disposable small-scale bioreactor for high-throughput process development: implementation of the 24 bioreactor array[J]. *Pharm Bioprocess*, 2015, 3(3): 185 - 197.
[32] TAI M, LY A, LEUNG I, *et al*. Efficient high-throughput biological process characterization: Definitive screening design with the ambr250 bioreactor system[J]. *Biotechnol Prog*, 2015, 31(5): 1388 - 1395.

编辑:蒋欣欣/接受日期:2021 - 08 - 26