

利用沃特世生物工艺walk-up解决方案简化生物反应器过程监控流程

Yun Alelyunas, Elizabeth Embrey, Lindsay Collins, Adrien Pegaz-Blanc, Guillaume Mignard, Mark Wrona

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

本文介绍了一套无人值守式解决方案，生物工艺工程师使用该解决方案可以轻松快速地收集属性信息，用于实施与工艺相关的监测和优化。Waters™生物工艺walk-up解决方案为自动化样品前处理和数据采集提供了简单易用的一站式操作平台。这套解决方案可以管理来自生物反应器的样品信息、创建LC-MS样品运行列表、执行自动化样品前处理，还可以启动分析和完整蛋白质数据处理。完整蛋白质分析和细胞培养基分析的自动化样品前处理和数据采集可在同一系统上通过预定义的工作流程连续完成，尽可能简化了操作并减少了人为干预需求。

优势

- 采用无人值守系统，用户在同一平台上即可执行自动化样品前处理和LC-MS数据采集
- 使用成熟的方法轻松获取完整蛋白质和细胞培养基样品数据
- 配备用户友好的自动化样品前处理和LC-MS平台，可在工艺监测和产品相关监测中获得高质量数据，包括完整蛋白质分析、细胞培养基分析，以及许多其他的产品分析项目（如果需要）

简介

蛋白质生产中的细胞培养或微生物接种是十分耗时的过程，通常持续约两周。人们愈发需要对关键工艺属性和产品属性（例如营养成分变化和原料药的高水平糖型信息）进行常规监测。监测补料和代谢物组分不仅有利于设计或优化补充营养成分的补料策略，可以检测和定量形成的有毒代谢物，还可以确定什么样的反应器条件能达到理想的细胞生长状态和生物生产效率。提高对工艺过程中形成的蛋白质的监测频率，有助于确定合适的细胞培养持续时间和优化产率，最重要的是能确保原料药品质符合质量标准。如果这些分析方法和技术都能为生物工艺团队所用，将有助于工艺工程师更快获取更深入的信息。但是，为了让非质谱专家也能在常规应用中运用该技术，我们需要确保系统易于使用，并且能快速给出信息丰富的结果并输出报告。在之前发布的一篇沃特世应用纪要中，我们介绍了一种适用于蛋白质和培养基分析的自动化样品前处理和LC-MS分析方法¹。本技术简报认为，生物工艺walk-up解决方案对于生物工艺实验室向自动化LC-MS分析转型很有帮助。用户使用基于OneLab™软件的同一个用户界面就可以无缝连接样品输入、自动化样品前处理，以及LC-MS数据采集和分析（图1）。此外，Sartorius Ambr® 15和250高通量生物反应器的用户还可以利用数据接口自动上传所有样品信息，并将结果传回Ambr软件供进一步评估。该接口与专为关键产品质量属性和工艺质量属性开发的预配置分析工作流程相结合，让生物工艺工程师只需接受少量培训或只需具备少量LC和MS技术知识就可以开展分析，获取高质量数据。

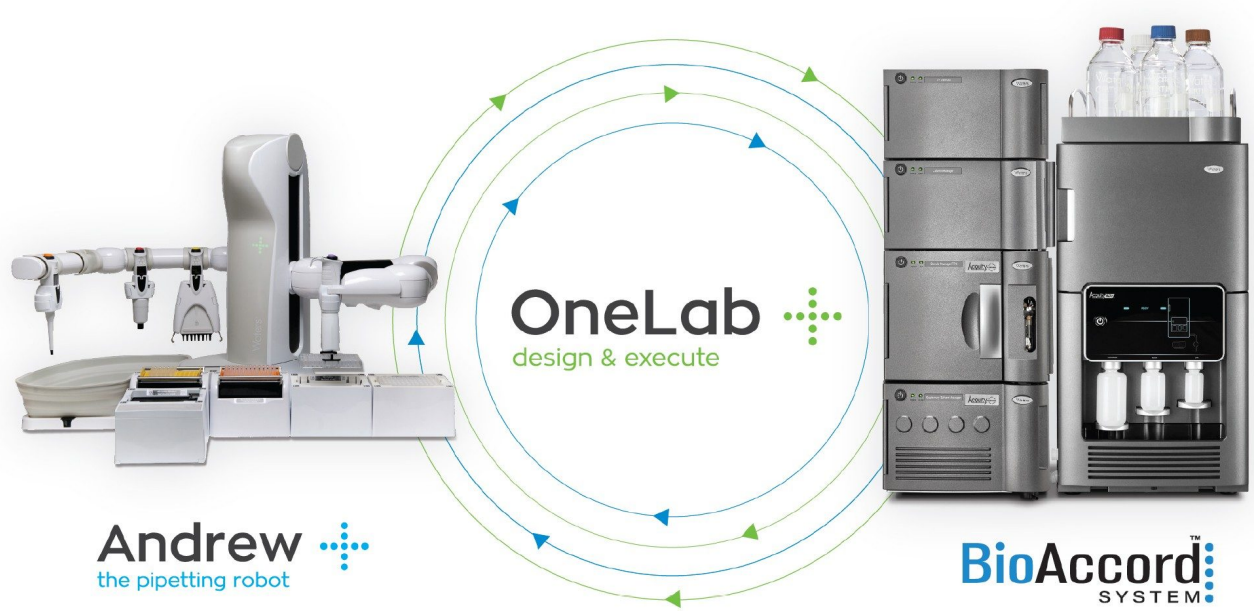


图1.沃特世生物工艺walk-up解决方案为自动化样品前处理以及LC-MS数据采集和报告提供了一站式操作的OneLab软件平台。

结果与讨论

1. 沃特世生物工艺walk-up解决方案概述

沃特世开发了一套集成式无人值守系统，供生物工艺工程师自动执行样品前处理和LC-MS数据采集。沃特世生物工艺walk-up解决方案基于OneLab软件，生物工艺工程师使用该软件可启动由Andrew+™移液机器人执行的自动化样品前处理操作及后续的LC-MS数据采集和处理。这套无人值守式解决方案旨在减轻通常由核心分析实验室承担的常规工艺监测工作，即使不具备丰富LC-MS使用经验的生物工艺工程师也可以使用该方案在实验室需要时自动检索到相关数据。该解决方案的顶层流程图如图2所示。具体而言，OneLab LC-MS接口将执行以下操作：

1. 选择检测方案，例如完整分子量分析和/或细胞培养基分析。检测方案是一系列方法的集合，这些方法有的用于由Andrew+移液机器人执行的样品前处理，有的用于由BioAccord™系统执行的LC-MS分析/报告。
2. 输入来自生物反应器的样品信息。如果使用Ambr 15或250 HT系统，OneLab的File Watcher工具会自动导入

样品信息文件。

3. 输入分析名称和相关信息，点击Continue（继续）后，系统将启动由Andrew+移液机器人执行的样品前处理步骤（图2C）。
4. 样品前处理完成后，系统会提示用户将样品放入BioAccord LC-MS系统。点击Continue（继续）后，BioAccord数据采集将自动开始（图2D）。
5. 用户可通过OneLab中的链接查看Intact Mass结果和细胞培养基数据采集状态。

OneLab接口会在后台与waters_connect™软件交互，控制BioAccord仪器和采集数据。当前的OneLab接口使用具有双色谱柱室的色谱柱管理器在单次运行中通过切换色谱柱连续执行完整分子量分析和培养基分析。如需详细了解Andrew+样品前处理方案和使用BioAccord LC-MS系统的LC-MS分析方法，请参阅另一篇应用纪要¹。汇总了样品前处理所需消耗品的列表见“附录”。



图2.基于OneLab软件平台一站式操作的生物工艺walk-up解决方案的顶层流程图

II.完整蛋白质分析结果

对于完整蛋白质分析，该解决方案使用Intact Mass™应用程序自动处理采集到的数据。Intact Mass应用程序是一款操作简单的专用数据处理应用程序，可自动处理原始谱图数据（质谱图去卷积），然后测定单克隆抗体(mAb)生物治疗药物的蛋白质修饰（主要糖型）和鉴别其分子量是否合格（通过/未通过）。有关Intact Mass应用程序的详细说明，请参阅沃特世之前发布的另一篇应用纪要²。图3是分析mAb样品得到的结果。在顶层仪表板界面中，所有样品都采用颜色编码系统做了可视化处理，绿色表示通过状态，即样品鉴定结果符合分析方法中设定的标准。点击每个样品可显示样品层面的信息，例如LC-MS色谱图、蛋白质修饰结果表、实测质谱图和去卷积质谱图（图3 B~D）。导出数据时，结果会以易于读取的格式导出至Ambr软件或其他第三方软件，供进一步整合、查看和分析。我们之前发布的一篇应用纪要¹展示了Ambr数据界面的示例，该界面显示了不同生物反应器的修饰百分比随温

育时间而变化的叠加图。

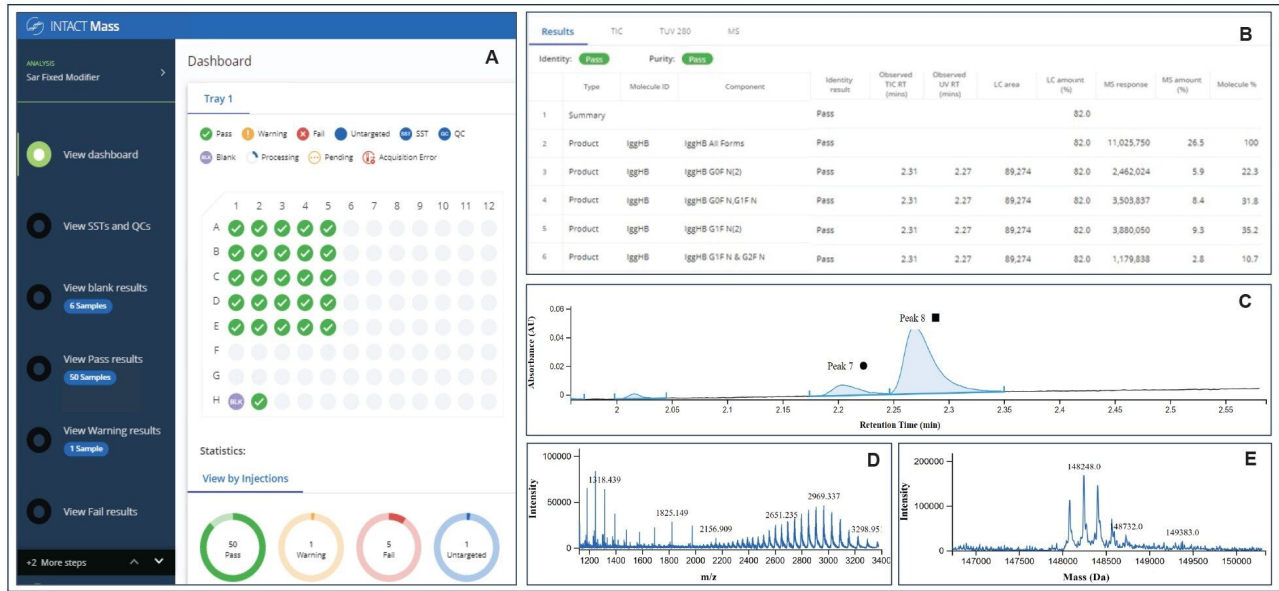


图3. waters_connect™平台上的Intact Mass应用程序的界面。(A) Dashboard (仪表板) 视图, 显示进样和mAb检测的状态, 绿色表示样品满足方法中设定的检测标准。(B)汇总表, 表中列出了监测生成的mAb时观察到的修饰, 包括保留时间、MS响应、修饰百分比及其他信息。(C)实测TUV色谱图, 用于峰检测。图中第一个峰是mAb的轻链(LC)峰, 第二个峰是完整mAb。(D)完整mAb峰的实测质谱图, 显示了电荷态分布。(E)完整mAb的去卷积质谱图, 图中可以观察到预期的四种主要糖基修饰。

III. 细胞培养基分析

对于细胞培养基营养成分分析和代谢物分析, 该解决方案目前使用UNIFI™筛查应用程序和waters_connect软件中的工作流程来处理采集到的数据。筛查工作流程负责执行小分子定量和定性分析。在本例中, 为了监测工艺, 我们在研究期间监测了采集到的每个培养基溶液样品中的胆碱及其代谢物(磷酸胆碱)(图4)。如需详细了解如何使用UNIFI进行细胞培养基分析, 请参阅我们之前发布的应用纪要³。分析可以轻松扩展到其他细胞培养基组分和鉴定出的代谢物。用户还可以使用其他工具来挖掘数据(如之前的应用纪要所述)³, 借助多变量数据分析(MVDA)方法深入了解培养基溶液中存在的化合物及其与代谢过程和细胞过程之间的关系。

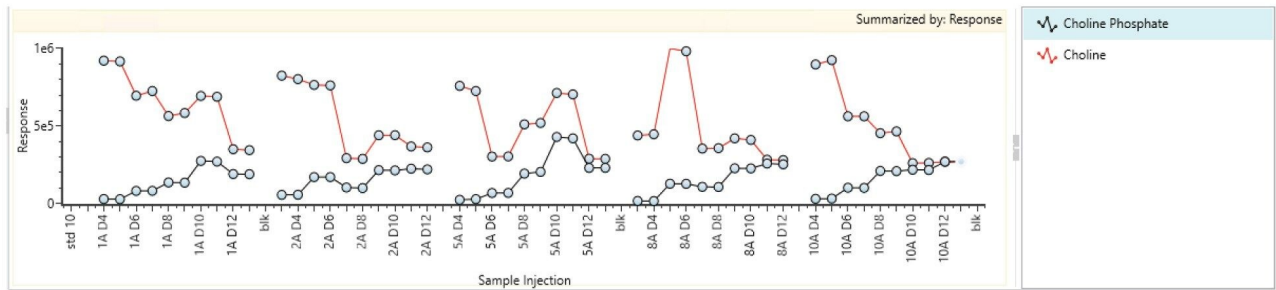


图4.胆碱和磷酸胆碱趋势图的叠加图。X轴是生物反应器名称和采样日期，y轴是LC-MS响应。红线表示胆碱，黑线表示磷酸胆碱。

结论

沃特世生物工艺walk-up解决方案提供了一个操作简单且功能强大的接口，方便用户使用Andrew+移液机器人实施自动化样品前处理和启动LC-MS数据采集。Andrew+移液机器人与BioAccord LC-MS系统相结合，能够快速处理采集自生物反应器系统的样品，以尽可能少的用户交互轻松得出高质量结果。该解决方案的亮点和功能包括：

- 通过OneLab简单易用的界面执行一站式操作，软件提供的预配置工作流程能以无人值守的方式启动样品前处理和后续数据采集
- 自动化样品前处理和样品信息传输，尽可能提高效率和减少人为错误
- 使用具有双色谱柱室的色谱柱管理器通过切换色谱柱连续采集完整蛋白质分析和细胞培养基分析的数据
- 无缝收集蛋白质糖谱和细胞培养基成分信息，协助用户更好地监测和了解工艺
- 设计紧凑、用户友好的BioAccord LC-MS系统可生成质量出色的数据，为开发更稳健的工艺提供支持

综上，沃特世生物工艺walk-up解决方案有助于工艺工程师在常规分析中轻松获取高质量数据，对工艺监测和工艺优化很有帮助。

参考资料

1. YW Alelyunas, C Prochaska, C Kukla, C Hanna, M Wetterhall, MD Wrona, Monitoring Intact Glycoprofiles and Spent Media Metabolites in Samples From Sartorius Ambr 250 High Throughput Bioreactor System to Support Upstream Process Development, 2023 Waters Appnote.
2. H Shion, P Boyce, SJ Berger, YQ Yu, INTACT Mass™ - 一款用于生物治疗药物快速质量数确认和纯度评估的通用waters_connect™应用程序, 2022年沃特世应用纪要, [720007547ZH](#).
3. YW Alelyunas, MD Wrona, W Chen, 使用搭载ACQUITY Premier的BioAccord LCMS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, 2021年沃特世应用纪要, [720007359ZH](#).

附录

消耗品说明	P/N	备注
Domino和实验室器皿		
枪头盒Domino (2)	186009612	容纳10 µL~1200 µL Optifit无滤芯枪头
微孔板Domino (2)	186009600	使用350 µL 96孔板时, 源孔板和目标孔板各配1个
8道移液枪加样槽Domino	186009613	容纳2个Integra 10 mL多道加样槽
2 mL HPLC样品瓶架Domino	186010091	容纳48孔HPLC样品瓶架, 用于制备标准品
溶剂加样槽	Integra Biosciences P/N 4332	10 mL多道溶剂加样槽
350 µL 96孔样品收集板	186002643	圆孔, 聚丙烯材质, 100个/包
96孔板聚丙烯盖垫, 圆孔, 50个/包	186002483	
聚丙烯材质12 × 32 mm螺纹口样品瓶, 700 µL (不带盖)	186005219	
48孔样品瓶架	700011047	
移液枪和枪头		
8道Andrew Alliance移液枪, 0.2~10 µL	186009768	
8道Andrew Alliance移液枪, 10~300 µL	186009607	
单道Andrew Alliance移液枪, 0.2~10 µL	186009769	
单道Andrew Alliance移液枪, 10~300 µL	186009606	
单道移液枪适配器	186009590	
多道移液枪适配器	186009591	
0.1~10 µL BH枪头, 补充装(10 × 96), 10包	700013293	
350 µL BH移液枪, 补充装(10 × 96), 10包	700013297	

Andrew Alliance系统制备完整蛋白质分析和培养基分析的样品及标准品时会用到的消耗品汇总

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>>

ACQUITY UPLC可变波长紫外检测器 <<https://www.waters.com/514228>>

生物工艺walk-up解决方案 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135124488>>

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

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

720008062ZH, 2023年8月



© 2024 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [招聘](#) [危险化学品生产经营许可证](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)
[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)