

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **044918**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.10.11

(21) Номер заявки
202291290

(22) Дата подачи заявки
2020.10.23

(51) Int. Cl. *C12M 1/00* (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01)
C12M 1/36 (2006.01)

(54) **СИСТЕМЫ И СПОСОБЫ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ИНОКУЛЯЦИИ В СИСТЕМЕ ПОСЕВНЫХ ФЕРМЕНТЕРОВ И СПОСОБЫ ПРОИЗВОДСТВА**

(31) **62/925,940**

(32) **2019.10.25**

(33) **US**

(43) **2022.08.08**

(86) **PCT/US2020/056960**

(87) **WO 2021/081262 2021.04.29**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**РИДЖЕНЕРОН
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
**Четерко Марк, Старлинг Алессандра,
Орр Колин, Пирс Уилльям Сет,
Конвэй Мэттью (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A2-2016196315
US-A1-2019112569
WO-A1-2018115161

(57) Система и способ автоматической инокуляции биореактора в процессе в системе посевных ферментеров, включающий расширительную камеру для размножения исходного запаса клеток до плотности жизнеспособных клеток, биореактор для инокуляции размноженным запасом клеток; канал сообщения по текучей среде между расширительной камерой и биореактором; насос для управления потоком жидкости через канал сообщения по текучей среде; спектрометр комбинационного рассеяния для генерирования спектральных данных комбинационного рассеяния; многомерную модель, обеспечивающую прогнозирование переменных обработки в расширительной камере; и компьютерную систему для управления насосом для осуществления автоматической инокуляции биореактора из расширительной камеры через канал сообщения по текучей среде, если компьютерная система определяет из данных спектра комбинационного рассеяния, что произошло одно или более заданных триггерных событий.

044918
B1

044918
B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

В настоящей заявке испрашивается преимущество и приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/925,940, поданной 25 октября 2019 г., и, где это допустимо, она включена посредством ссылки в полном объеме.

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретения, охватываемые данным документом, включают биореакторные системы и способы мониторинга и управления процессом в системе посевных ферментеров в биореакторной системе. Конкретные варианты осуществления изобретения дополнительно включают биореакторные системы, которые включают спектрометр комбинационного рассеяния, и способы, в которых используется спектроскопия комбинационного рассеяния, для мониторинга и управления процессом в системе посевных ферментеров.

Уровень техники изобретения

Терапевтические антитела и, в частности, моноклональные антитела (МАТ), стали важным инструментом современной медицины для разработки целевых белков, которые могут быть использованы для лечения широкого спектра заболеваний, включая рак и аутоиммунные заболевания.

Представляющие интерес целевые белки продуцируются клеточной линией, которая размножается из исходного криоконсервированного запаса клеток с использованием процесса в системе посевных ферментеров в течение одной или более стадий до тех пор, пока не будет достигнута заданная плотность жизнеспособных клеток (ПЖК), после чего размноженный запас клеток затем вводят в производственный биореактор для инокуляции содержащейся в нем культуральной среды. После инокуляции клеточная культура продолжает расти в биореакторе до тех пор, пока целевой белок не экспрессируется в желаемом количестве, после чего может быть собрана культуральная жидкость, а целевой белок может быть выделен и очищен.

Традиционные процессы в системе посевных ферментеров включали несколько стадий роста и размножения клеток между исходным криоконсервированным клеточным запасом и конечной продукцией биореактора, с использованием сосудов увеличивающегося размера. В ранних процессах первоначальный запас криоконсервированных клеток мог быть увеличен в несколько стадий, которые могут включать, например, одну или более колб для встряхивания, один или более вращающихся элементов, один или более одноразовых биореакторов фирмы WAVE Biotech и одну или более расширительных камер для достижения заданной ПЖК для инокуляции в производственный биореактор. Совсем недавно были разработаны более эффективные процессы в системе посевных ферментеров для достижения заданной ПЖК за меньшее количество стадий. Однако современные процессы по-прежнему требуют размножения клеток по меньшей мере через одну расширительную камеру для достижения заданной ПЖК перед инокуляцией культуральной среды в биореактор конечной продукции.

В целом, конечная концентрация целевого белка может быть увеличена, а однородность показателей качества от партии к партии может быть снижена в производственном биореакторе с использованием инокулята, имеющего такую же ПЖК. Однако существует диапазон ПЖК инокулята, который приводит к заданной производительности биореактора. Например, слишком низкий уровень ПЖК инокулята может привести к нежелательному метаболизму лактатных клеток, а слишком высокий уровень ПЖК инокулята может привести к снижению роста клеток в производственном биореакторе из-за выхода клеток из фазы экспоненциального роста.

Нежелательный метаболизм лактатных клеток и более низкий рост клеток в производственном биореакторе приводят к получению более низких количеств целевого белка, чем могло бы быть получено из этих клеток, и, следовательно, приравниваются к потере производительности и общему снижению эффективности процесса. Таким образом, желательно, чтобы размножение клеток росло до заданной ПЖК, что приводит к желаемому метаболизму лактатных клеток в производственном биореакторе и поддерживает экспоненциальный рост клеток, и чтобы производственный биореактор инокулировали как можно скорее после достижения заданной ПЖК.

Следует понимать, что целевой диапазон ПЖК будет варьироваться от одной клеточной линии к другой в зависимости от свойств разных клеточных линий. Однако возникает дополнительная сложность, связанная с тем, что размножение клеток может также различаться между отдельными производственными циклами общей клеточной линии из-за различий в культуральной среде и других рабочих условиях. В результате этого время инокуляции производственного биореактора после размножения клеток в расширительной камере до заданного значения ПЖК может варьироваться.

Несмотря на многочисленные достижения, полученные к настоящему времени в данной области техники, остается потребность в дальнейшем совершенствовании процессов в системе посевных ферментеров для дальнейшего совершенствования уровня техники и повышения производительности в целом. В качестве одного неограничивающего примера можно сказать, что уровень техники выиграл бы от усовершенствований, которые облегчают инокуляцию производственного биореактора после размножения клеток до заданной ПЖК.

Сущность изобретения

Данное изобретение относится к системам и способам, в которых используются инструменты процессно-аналитической технологии (PAT) tools и PAT администратор базы знаний (Knowledge Manager) для обеспечения стратегий мониторинга и управления для повышения согласованности процесса. В одном аспекте, системы и способы по данному изобретению уменьшают зависимость от ручных операций для получения и проверки автономных образцов для подтверждения целевых плотностей клеток и для инициирования переноса клеточной культуры между биореакторами, например, при инокуляции конечного производственного биореактора. Спектроскопия комбинационного рассеяния используется в сочетании с программным обеспечением для управления данными PAT, чтобы обеспечить непрерывный мониторинг клеточного роста и автоматический перенос клеточной культуры между двумя сосудами при обнаружении заданного триггерного события (например, когда обнаружена целевая плотность жизнеспособных клеток).

Системы, представленные в данном документе, работают для мониторинга клеточной культуры в расширительной камере с использованием спектрометра комбинационного рассеяния и управления инокуляцией производственного биореактора инокулятом из расширительной камеры на основе спектральных данных комбинационного рассеяния. В некоторых примерах схема управления системой включает автоматическую инокуляцию производственного биореактора с использованием встроенного насоса на основе определения того, что культура клеток в расположенной выше по потоку расширительной камере (например, в расположенном выше по потоку биореакторе относительно меньшего объема) достигла заданного уровня плотности жизнеспособных клеток (ПЖК). Такие системы и способы могут быть использованы в отношении клеточных культур, которые включают клетки млекопитающих, например, клетки яичника китайского хомячка (СНО), причем клеточная культура может быть культивирована с получением белков, которые включают антитела, их антигенсвязывающие фрагменты или слитые белки.

Системы, приведенные в данном документе, также могут включать один или более процессоров, связанных с машиночитаемым носителем (например, физическую энергонезависимую память), в котором хранится программный код для выполнения одним или более процессорами, обеспечивающий получение системой данных, включая ПЖК клеточной культуры, от спектрометра комбинационного рассеяния света; и для выполнения инокуляции производственного биореактора на основе спектральных данных комбинационного рассеяния. Программный код, хранящийся на машиночитаемом носителе, может быть дополнительно выполнен с возможностью использования одной или более многомерных моделей, например, модели частичной регрессии наименьших квадратов, для интерпретации спектральных данных комбинационного рассеяния. Программный код может быть дополнительно выполнен с возможностью управления системой для выполнения одного или более методов обработки сигналов в отношении спектральных данных, например, метода уменьшения шума.

Системы, раскрытые в данном документе, предназначены для мониторинга и управления процессом в системе посевных ферментеров и могут включать расширительную камеру для приема исходного запаса клеток для размножения в культуре жизнеспособных клеток; биореактор, сообщающийся по текучей среде с расширительной камерой для получения жизнеспособной клеточной культуры; насос для переноса жизнеспособной клеточной культуры из расширительной камеры в биореактор через канал сообщения по текучей среде между расширительной камерой и биореактором; многомерную модель для корреляции спектральных данных комбинационного рассеяния с одной или более переменными процесса размножения клеток в расширительной камере с использованием спектрометрии комбинационного рассеяния, при этом спектрометр комбинационного рассеяния приспособлен для генерирования спектральных данных комбинационного рассеяния; и компьютерную систему, имеющую сигнальную связь со спектрометром комбинационного рассеяния для приема спектральных данных комбинационного рассеяния, и сигнальную связь с насосом для управления работой насоса для осуществления переноса жизнеспособной клеточной культуры из расширительной камеры в биореактор.

Спектрометр комбинационного рассеяния может быть приспособлен для генерирования спектральных данных комбинационного рассеяния, многомерная модель сопоставляет спектральные данные комбинационного рассеяния с одной или более переменными процесса, а компьютерная система может быть приспособлена для сравнения значений измерения переменных процесса с одной или более заданными величинами процесса, чтобы определить, удовлетворяют ли одно или более значений измерения переменных процесса заданному триггерному значению. В случае, если компьютерная система определяет, что результат измерения переменной процесса в спектральных данных комбинационного рассеяния удовлетворяет заданному триггерному значению, система управления дает насосу команду выполнить автоматический перенос объема клеточной культуры из расширительной камеры в биореактор, таким образом, автоматически инокулируя культуральную среду в биореакторе культурой клеток из расширительной камеры.

Компьютерная система обрабатывает спектральные данные комбинационного рассеяния, полученные от спектрометра комбинационного рассеяния, для создания многомерной модели одной или более переменных процесса, которая может включать модель частичной регрессии методом наименьших

квадратов. При сравнении измерений параметров процесса из спектральных данных комбинационного рассеяния с одной или более заданными величинами процесса, компьютерная система может использовать результаты измерения параметров процесса из множества заданных выделенных областей спектральных данных комбинационного рассеяния, например, областей с длиной волны 800-850 см⁻¹; 1260-1470 см⁻¹; 1650-1840 см⁻¹; и/или 2825-3080 см⁻¹.

Описанные в данном документе системы могут быть использованы для автоматической инокуляции биореактора посредством размножения запаса клеток в расширительной камере; генерирования спектральных данных комбинационного рассеяния с использованием многомерной модели для прогнозирования одной или более переменных процесса размножения клеток в расширительной камере; сравнения с компьютерной системой спрогнозированных переменных процесса на основе спектральных данных комбинационного рассеяния и заданных значений процесса; и приведения в действие насоса для автоматической инокуляции биореактора жизнеспособной клеточной культурой из расширительной камеры, если компьютерная система определяет, что одна или более спрогнозированных переменных процесса на основе данных спектра комбинационного рассеяния удовлетворяют заданному триггерному значению.

Системы в данном документе могут обрабатывать спектральные данные комбинационного рассеяния, полученные от спектрометра комбинационного рассеяния, для создания многомерной модели одной или более переменных процесса, а затем могут получать спрогнозированные переменные процесса из многомерной модели для сравнения с сохраненными заданными триггерными значениями. После завершения процесса в системе посевных ферментеров, система может сохранить многомерную модель для этого завершенного процесса в системе посевных ферментеров для использования при мониторинге и контроле последующего процесса в системе посевных ферментеров. В последующем процессе в системе посевных ферментеров, система может использовать одну или более многомерных моделей из одного или более предшествующих процессов в системе посевных ферментеров для сравнения с одним или более значениями измерения переменных обработки в последующем процессе в системе посевных ферментеров. Система может использовать одну или более многомерных моделей из одного или более предшествующих процессов в системе посевных ферментеров для мониторинга условий обработки в расширительной камере и/или биореакторе.

Как вышеприведенное общее описание, так и последующее подробное описание являются только иллюстративными и пояснительными и предназначены для обеспечения дополнительного пояснения заявленного изобретения. Сопроводительные графические материалы включены для обеспечения дальнейшего понимания изобретения; включены в данное описание и составляют его часть; иллюстрируют варианты осуществления изобретения; и вместе с описанием служат для объяснения принципов изобретения.

Краткое описание графических материалов

Дополнительные признаки и преимущества изобретения могут быть установлены из приведенного ниже подробного описания, которое представлено вместе с приведенными ниже графическими материалами:

На фиг. 1 проиллюстрирован один пример системы по данному изобретению;

На фиг. 2 проиллюстрирован один пример архитектуры вычислительных систем, которая может быть использована вместе с компьютерной системой системы по фиг. 1;

На фиг. 3 проиллюстрирован один пример способа использования системы по фиг. 1 для автоматической инокуляции биореактора;

На фиг. 4a-4d проиллюстрированы стадии сбора и обработки спектральных данных и создания регрессионной модели из собранных спектральных данных с использованием системы по фиг. 1;

На фиг. 5 проиллюстрирован пример регрессионной модели, созданной из спектральных данных комбинационного рассеяния с использованием системы по фиг. 1;

На фиг. 6 проиллюстрированы диапазоны данных спектральной модели для использования при создании регрессионной модели с использованием системы по фиг. 1;

На фиг. 7 проиллюстрирован один сравнительный пример двух регрессионных моделей, созданных с использованием различных областей спектральных данных комбинационного рассеяния системой по фиг. 1; и

На фиг. 8 проиллюстрирована взвешенная регрессионная модель прогнозируемых значений процесса, генерируемых системой по фиг. 1.

Подробное описание изобретения

В приведенном ниже раскрытии рассмотрено данное изобретение со ссылкой на примеры, проиллюстрированные на прилагаемых графических материалах, но данное изобретение не ограничивается этими примерами.

В контексте данного документа формы единственного числа включают ссылки на множественное число, если в контексте явно не указано иное. Использование любых и всех примеров или вводного слова перед примером (например, "например"), предложенным в данном документе, предназначено только для лучшего освещения изобретения и не налагает ограничения на объем изобретения, если не

указано иное. Никакая формулировка в описании не должна толковаться как указывающая на какой-либо не заявленный элемент, как на существенный или же имеющий первостепенную важность для практического применения изобретения. Если в контексте не указано иное, такие термины, как "первый", "второй", "третий" и т.д., когда они используются для описания нескольких устройств или элементов, используются только для передачи относительных действий, позиционирования и/или функций отдельных устройств, и не требуют ни специального заказа таких устройств или элементов, ни какого-либо определенного количества таких устройств или элементов.

Слово "по существу" в контексте данного документа по отношению к какому-либо свойству или обстоятельству относится к степени отклонения, которая является достаточно малой, чтобы заметно не уменьшать идентифицированное свойство или обстоятельство. Точная степень отклонения, допустимая в данных обстоятельствах, будет зависеть от конкретного контекста, как это будет понятно специалистам в данной области техники.

Использование терминов "около" или "приблизительно" предназначено для описания значений выше и/или ниже указанного значения или диапазона, как это будет понятно специалисту в данной области техники в соответствующем контексте. В некоторых случаях он может охватывать значения в диапазоне $\pm 10\%$; в других случаях могут быть охвачены значения в диапазоне $\pm 5\%$; еще в других случаях могут быть охвачены значения в диапазоне $\pm 2\%$; и в других случаях он может охватывать значения в диапазоне $\pm 1\%$. Применимый диапазон для каждого случая будет понятен из контекста, и никаких дополнительных ограничений не подразумевается.

Следует понимать, что термины "содержит" и/или "содержащий", при их использовании в данном описании, определяют наличие заявленных признаков, целых чисел, стадий, операций, элементов и/или компонентов, но не исключают наличия или добавления одного или более других признаков, целых чисел, стадий, операций, элементов, компонентов и/или их групп, если это не указано в данном документе или же явно не противоречит контексту.

Приведенные в данном документе диапазоны значений, если в данном документе не указано иное, служат в качестве сокращения для отдельной ссылки на каждое отдельное значение, попадающее в указанные диапазоны, включая конечные точки каждого диапазона, каждое отдельное значение в каждом диапазоне и все промежуточные диапазоны, включенные в каждый диапазон, причем каждое из них включено в описание, как если бы оно было отдельно приведено в данном документе.

Все способы, описанные в данном документе, могут быть осуществлены отдельными стадиями, выполняемыми в любом подходящем порядке. Если в данном документе не указано иное или иное явно не противоречит контексту, способы могут выполняться в точном описанном порядке и без каких-либо промежуточных стадий, с использованием одной или более дополнительных стадий, находящихся между описанными стадиями, причем описанные стадии выполняются в порядке, отличном от точного раскрытого порядка, с использованием одной или более стадий, выполняемых одновременно, и с использованием одной или более пропущенных из описанных стадий.

Термины "культура клеток" и "среда для культивирования клеток" могут использоваться взаимозаменяемо и включать любые твердые, жидкие или полутвердые вещества, предназначенные для поддержания роста и сохранения микроорганизмов, клеток или клеточных линий. Такие компоненты, как полипептиды, сахара, соли, нуклеиновые кислоты, клеточный дебрис, кислоты, основания, pH-буферы, кислород, азот, агенты для модуляции вязкости, аминокислоты, факторы роста, цитокины, витамины, кофакторы и питательные вещества могут присутствовать в средах для культивирования клеток. В некоторых примерах может быть представлен процесс культивирования клеток млекопитающих с использованием клеток или клеточных линий млекопитающих, например, клеточной линии яичников китайского хомячка (СНО), выращенной в базальной среде определенного химического состава.

В контексте данного документа термин "питательное вещество" может относиться к любому соединению или веществу, которое обеспечивает питание, необходимое для роста и выживания клеточной культуры. Примеры питательных веществ включают, но не ограничиваются ими, простые сахара, например, глюкозу, галактозу, лактозу, фруктозу или мальтозу; аминокислоты; и витамины, например, витамин А, витамины группы В и витамин Е.

В контексте данного документа термин "сигнальная связь" может относиться к любому способу передачи сигнала между двумя или более устройствами, включая, но не ограничиваясь ими, физические соединения (например, проводные пути прохождения сигнала) и нефизические соединения (например, беспроводные пути прохождения сигнала). Если не указано иное, передача сигналов между двумя устройствами может быть прямой (например, передатчик в первом устройстве напрямую обменивается данными с приемником во втором устройстве) или косвенной (например, передатчик в первом устройстве и приемник во втором устройстве обмениваются данными друг с другом через промежуточный приемопередатчик).

В одном примере, как проиллюстрировано на фиг. 1, предлагается система 10, содержащая расширительную камеру 110, спектрометр 120, насос 130, производственный биореактор 140 и компьютерную систему 150. Расширительная камера 110 и биореактор 140 находятся в жидкостном

сообщении друг с другом через линию 135 подачи, при этом поток жидкости через линию 135 подачи управляется насосом 130. Спектрометр 120 имеет по меньшей мере один датчик 125, приспособленный для мониторинга клеточной культуры в расширительной камере 110, и имеет сигнальную связь с компьютерной системой 150. Компьютерная система 150 имеет сигнальную связь по меньшей мере со спектрометром 120 и насосом 130, хотя также может иметь сигнальную связь с одной или более, или каждым из: расширительной камеры 110, биореактора 140 и сети. В некоторых примерах два или более спектрометра 120 комбинационного рассеяния света, компьютерная система 140 и насос 130 могут быть предложены в виде единого целого.

Расширительная камера 110 и биореактор 140 могут работать как устройства периодического действия, периодического действия с подпиткой и/или устройства непрерывного действия. Как расширительная камера 110, так и биореактор 140 могут иметь объем в диапазоне от около 2 л до около 10000 л. Например, расширительная камера 110 может представлять собой аппарат из нержавеющей стали объемом 50 л, а биореактор 140 может представлять собой аппарат объемом 250 л. Как расширительная камера 110, так и биореактор 140 должны поддерживать количество клеток в диапазоне от около $0,25 \times 10^6$ клеток/мл до около 100×10^6 клеток/мл.

В одном примере спектрометр 120 представляет собой спектрометр комбинационного рассеяния света, который может отслеживать и собирать данные о любом компоненте клеточной культуры, который имеет обнаруживаемый спектр комбинационного рассеяния. Описанные в данном документе системы и способы могут быть использованы для мониторинга любого компонента среды культивирования клеток, включая компоненты, добавляемые к культуре клеток, вещества, секретируемые клетками, и клеточные компоненты, присутствующие при гибели клеток. Компоненты сред для культивирования клеток, которые можно контролировать посредством систем и способов, включают, но не ограничиваются ими: питательные вещества, например, аминокислоты и витамины; лактат; сопутствующие факторы; факторы роста; скорость роста клеток; pH; кислород; азот; численность жизнеспособных клеток; кислоты; основания; цитокины; антитела; и метаболиты.

Компьютерная система 150 может быть реализована с использованием одной или более специально запрограммированных компьютерных систем общего назначения, например, встроенных процессоров, систем на кристалле, персональных компьютеров, рабочих станций, серверных систем и мини-компьютеров или мейнфреймов, или в распределенных сетевых вычислительных средах. Компьютерная система 150 может включать один или более процессоров (ЦП) 1502A,-1502N, схему 1504 ввода/вывода, сетевой адаптер 1506 и память 1508. ЦП 1502A-1502N выполняют программные инструкции для того, чтобы выполнять функции представленных систем и способов. Как правило, ЦП 1502A-1502N представляют собой один или более микропроцессоров, например, процессор INTEL CORE®.

Схема 1504 ввода/вывода обеспечивает возможность ввода данных в компьютерную систему 150 или вывода данных из нее. Например, схема 1504 ввода/вывода может включать устройства ввода, например, клавиатуры, мыши, сенсорные панели, шаровые манипуляторы, сканеры, аналого-цифровые преобразователи и т.д., устройства вывода, например, видеоадаптеры, мониторы, принтеры и т.д., и устройства ввода/вывода, например, модемы и т.д. Сетевой адаптер 1506 соединяет компьютерную систему 150 с сетью 1510, которая может представлять собой любую общедоступную или проприетарную локальную или глобальную сеть, включая, но не ограничиваясь этим, интернет.

Память 1508 хранит программные инструкции, которые выполняются, и данные, которые используются и обрабатываются центральными процессорами 1502A-1502N для выполнения функций компьютерной системы 150. Память 1508 может включать, например, электронные запоминающие устройства, например, оперативное запоминающее устройство (RAM), постоянное запоминающее устройство (ROM), программируемое постоянное запоминающее устройство (PROM), электрически стираемое программируемое постоянное запоминающее устройство (EEPROM), флэш-память и т.д., а также электромеханическую память, например, накопители на магнитных дисках, накопители на магнитной ленте, приводы на оптических дисках и т.д., которые могут использовать интерфейс встроенной электроники привода (IDE) или его вариант или усовершенствование, например расширенный IDE (EIDE) или сверхпрямой доступ к памяти (UDMA), или интерфейс на основе интерфейса малой компьютерной системы (SCSI), или его изменение или усовершенствование, например, ускоренный интерфейс SCSI, широкополосный интерфейс SCSI, ускоренный и широкополосный интерфейс SCSI и т.д., или Serial Advanced Technology Attachment (SATA), или его изменение или усовершенствование, или интерфейс на основе ответвления волоконно-оптического канала с арбитражной логикой (FC-AL).

Память 1508 может включать подпрограммы 1512 контроллера, данные 1514 контроллера и операционную систему 1516. Подпрограммы контроллера могут включать программное обеспечение для выполнения обработки для реализации одного или более контроллеров. Данные контроллера могут включать данные, необходимые подпрограммам контроллера для выполнения обработки. В одном варианте осуществления изобретения подпрограммы контроллера могут включать многомерное программное обеспечение для выполнения многомерного анализа, например, регрессионного моделирования PLS. В этом аспекте подпрограммы контроллера могут включать SIMCA (Sartorius

Stedim Data Analytics AB, Умеа, Швеция) для выполнения моделирования PLS. В другом варианте осуществления изобретения подпрограммы контроллера могут также включать программное обеспечение для выполнения подавления шума в наборе данных. В этом аспекте подпрограммы контроллера могут включать MATLAB Runtime (The Mathworks Inc., Natick, Mass.) для выполнения моделей фильтров шумоподавления. Более того, подпрограммы контроллера могут включать программное обеспечение, например, MATLAB Runtime, для управления автоматизированным узлом управления, например, пропорционально-интегрально-дифференциальным (PID) контроллером. Программное обеспечение для работы системы также должно быть способно вычислять разницу между заданной величиной и измеренной переменной процесса (например, измеренной концентрацией питательных веществ) и давать прогноз того, когда будет достигнута заданная величина. При включении функции прогнозирования времени достижения заданной величины, как в случае с PID контроллером, компьютерная система 150 также осуществляет сигнальную связь с насосом 130 таким образом, чтобы нормальное количество инокулята могло быть закачено в расширительную камеру 110 и/или биореактор 140, как было задано. Система 10 может отслеживать и контролировать переменные процесса в расширительной камере 110 и биореакторе 140, как показано на фиг. 1, или во множестве расширительных камер и/или во множестве биореакторов.

На фиг. 3 показана блок-схема для одного способа 200 выполнения процесса в системе посевных ферментеров с системой 10. После введения криоконсервированного запаса клеток в культуральную среду в расширительной камере 110, спектрометр комбинационного рассеяния 120 собирает спектральные данные комбинационного рассеяния (фиг. 4а) из размножающейся клеточной культуры в расширительной камере 110 (стадия 201). Спектроскопия комбинационного рассеяния - это форма колебательной спектроскопии, которая предоставляет информацию о молекулярных колебаниях, которая может быть использована для идентификации и количественного анализа образцов. Спектрометр комбинационного рассеяния 120 собирает спектральные данные комбинационного рассеяния через датчик 125, который может быть контактным либо бесконтактным датчиком. Бесконтактный датчик 125 позволяет проводить анализ комбинационного рассеяния в клеточной культуре *in situ*, не требуя контакта с клеточной культурой или ее извлечения. Преимущество анализа комбинационного рассеяния *in situ* состоит в том, что он является неинвазивным и, следовательно, снижает риск загрязнения клеточной культуры, которое может оказать нежелательное влияние на клеточную культуру и полученные белки.

Спектральные данные комбинационного рассеяния собираются с постоянной частотой, таким образом, спектральные данные постоянно обновляются. Спектральные данные могут быть собраны один раз приблизительно каждые 10-120 мин, один раз приблизительно каждые 15-60 мин или один раз приблизительно каждые 20-30 мин. Соответствующая частота отбора проб может быть определена в каждом конкретном случае, например, на основе конкретной клеточной линии и/или условий обработки, которые считаются подходящими для обеспечения того, чтобы спектральные данные корректно отражали текущее состояние данной клеточной культуры. Можно использовать любой коммерчески доступный спектрометр комбинационного рассеяния, неограничивающий пример которого может включать спектрометры RamanRXN2 и RamanRXN4 (Kaiser Optical Systems, Inc. Ann Arbor, Mich.).

После сбора, на стадии 202 необработанные спектральные данные передаются в компьютерную систему 150, где они предварительно обрабатываются, а обработанные данные комбинационного рассеяния (фиг. 4В) хранятся в памяти 1508 в выделенном месте для последующего использования (стадия 202). В некоторых примерах обработка спектральных данных комбинационного рассеяния включает применение одного или более спектральных фильтров для коррекции любых сдвигов базовой линии. Например, необработанные спектральные данные могут быть обработаны методом точечного сглаживания или методом нормализации. Нормализация может потребоваться для корректировки любого изменения мощности лазера и продолжительности экспозиции посредством спектрометра комбинационного рассеяния. В некоторых примерах необработанные спектральные данные комбинационного рассеяния могут быть обработаны с использованием точечного сглаживания, например, 1^{st} производная с точечным сглаживанием 21 cm^{-1} , и нормализации, например, нормализации стандартного отклонения случайной величины с нормальным распределением (SNV).

Параллельно со сбором спектральных данных комбинационного рассеяния (стадия 201) данные переменных процесса также собираются с использованием альтернативного "автономного" способа (стадия 203) и аналогичным образом сохраняются в памяти 1508 (стадия 204). При автономном режиме данные переменных процесса могут быть собраны с использованием любого подходящего аналитического способа, например, с использованием образца клеточной культуры, полученного вручную, который испытывают в локальном анализаторе, например, анализаторе BioProfile Flex® Analyzer (Nova Biomedical Corporation, Массачусетс, США). При автономном режиме данные переменных процесса собираются с более низкой частотой, чем спектральные данные комбинационного рассеяния - например, один раз приблизительно каждые 24 ч, один раз приблизительно каждые 12 ч или один раз приблизительно каждые 6 ч - и служат базовым эталоном для спектральных данных комбинационного рассеяния. После сбора в автономном режиме данные переменных процесса также сохраняются в компьютерной системе 150 в выделенном месте. При сборе данных переменных процесса

в автономном режиме компьютерная система 150 может также хранить информацию из ПАТ и/или систем управления данными (например, систем управления лабораторными данными и/или непрерывными данными процесса в режиме онлайн).

Компьютерная система 150 использует обработанные данные комбинационного рассеяния для создания многомерной модели, которая сообщает одну или более технологических переменных клеточной культуры (стадия 205). В случае, если доступны данные переменных процесса в автономном режиме, компьютерная система 150 сравнивает спектральные данные комбинационного рассеяния с соответствующими данными переменных процесса в автономном режиме, чтобы сопоставить пики между двумя наборами данных. Компьютерная система использует сохраненные данные ПАТ и/или данные управления для корреляции данных переменных процесса в автономном режиме с соответствующими спектральными данными комбинационного рассеяния. Любой тип многомерного пакета программного обеспечения, например, SIMCA 13 (Sartorius Stedim Data Analytics AB, Умео, Швеция), может быть использован для корреляции пиков между двумя наборами спектральных данных.

Многомерное моделирование, выполняемое компьютерной системой 150, может включать, но не ограничивается этим, частичные наименьшие квадраты (PLS), анализ главных компонент (PCA), ортогональные частичные наименьшие квадраты (OPLS), многомерную регрессию, каноническую корреляцию, факторный анализ, кластерный анализ, графические процедуры и аналогичные методы. В примере, проиллюстрированном на фиг. 4c-4d, регрессионная модель PLS создается посредством подгонки доступных значений измерений, полученных из спектральных данных комбинационного рассеяния, и данных переменных процесса в автономном режиме (фиг. 4C), и указанную модель оптимизируют (стадия 206) посредством удаления выпадающих показателей, чтобы получить модель линейного прогнозирования (фиг. 4d). Такая регрессионная модель PLS может быть использована для обеспечения прогнозируемых значений процесса, например, прогнозируемых значений концентрации для конкретной переменной, которая должна отслеживаться компьютерной системой 150 для осуществления управления системой 10.

Оптимизация модели может включать применение дополнительных методов обработки сигналов к многомерной модели и предсказанным значениям процесса в ней. В одном примере к прогнозируемым значениям процесса может быть применен метод уменьшения шума для выполнения сглаживания данных и/или подавления сигнала. Такие методы уменьшения шума обеспечивают отфильтрованную модель. Один из методов уменьшения шума заключается в объединении необработанных результатов измерений с основанной на модели оценкой того, что измерения должны дать в соответствии с моделью. Метод снижения шума может объединять текущее прогнозируемое значение процесса с его неопределенностями, которые могут определяться повторяемостью прогнозируемых значений процесса и текущими условиями процесса. Как только наблюдается следующее прогнозируемое значение процесса, оценка прогнозируемого значения процесса обновляется с использованием средневзвешенного значения, при этом больший вес придается оценкам с более высокой степенью достоверности. С использованием итеративного подхода, окончательные значения процесса могут быть обновлены на основе предыдущего измерения и текущих условий процесса. В этом аспекте алгоритм должен быть рекурсивным и способным работать в реальном времени, чтобы использовать текущее прогнозируемое значение процесса, предыдущее значение и экспериментально определенные константы. Метод уменьшения шума повышает надежность измерений анализа комбинационного рассеяния и прогнозов PLS.

Компьютерная система 150 включает автоматизированный узел управления (ACU) 155, который работает на стадии 207 для оценки смоделированных спектральных данных, чтобы определить, следует ли активировать насос 130 для переноса объема клеточной культуры из расширительной камеры 110 в биореактор 140, чтобы инокулировать культуральную среду в биореакторе 140. ACU 155 хранит одно или более заданных значений величины, каждое из которых определяет триггерное событие для выполнения автоматической инокуляции. ACU 155 может представлять собой автоматизированный контроллер любого типа, способный сравнивать отфильтрованные значения процесса с одним или более заданными значениями величины и автоматически выполнять заданное действие при определении того, что одно или более отфильтрованных значений процесса удовлетворяют условию соответствующего заданного значения величины (например, равно или выше максимального заданного значения величины; близко к или ниже минимального заданного значения величины и т.п.). Если ACU 155 определяет, что заданные условия для инокуляции были соблюдены, то ACU 155 приводит в действие насос 130 для создания потока жидкости через жидкостную линию 135, таким образом, автоматически инокулируя биореактор 140 (стадия 208), в противном случае процесс возвращается к сбору данных через итеративный цикл (стадия 209).

В одном примере ACU 155 сохраняет заданное значение величины (также именуемое в данном документе "триггерным значением") на основе целевой ПЖК для клеточной культуры, являющейся объектом текущего процесса в системе посевных ферментеров. Такое заданное значение величины может быть установлено для целевой ПЖК, таким образом, может быть желаемым клеточный метаболизм в производственном биореакторе, а также поддержание клеток в фазе экспоненциального роста. Например, значение триггера на основе ПЖК может быть установлено равным значению, равному

заданной целевой ПЖК; значению, составляющему - 2,5% от целевой ПЖК; значению, составляющему - 5% от целевой ПЖК; значению, составляющему - 10% от целевой ПЖК; и аналогичным значениям. В таком примере, если АСУ 155 определяет, что измеренное значение ПЖК равно и больше, чем заданное триггерное значение на основе ПЖК, то АСУ 155 обрабатывает это условие как триггерное событие для приведения в действие насоса 130, чтобы вызвать поток жидкости через жидкостную линию 135, таким образом, чтобы культуральная среда в биореакторе 140 автоматически инокулировалась объемом клеточной культуры из расширительной камеры 110.

АСУ 155 может хранить любое количество заданных триггерных значений, устанавливая условия для любого количества триггерных событий. Например, первое триггерное значение может быть установлено на основе целевой ПЖК, а второе триггерное значение может быть установлено на основе минимального значения лактата. Триггерное значение на основе ПЖК может представлять собой целевое значение ПЖК для использования при инокуляции биореактора 140, например, описанное ранее, при этом триггерное значение на основе лактата может идентифицировать минимальный уровень лактата, который был задан, чтобы сигнализировать об изменении состояния роста клеток. Такое триггерное значение на основе лактата может быть установлено на значение, равное заданному минимальному уровню лактата; значение, которое составляет +2,5% от минимального уровня лактата; значение, которое составляет +5% от минимального уровня лактата; значение, которое составляет +10% от минимального уровня лактата; и аналогичное значение. В таком примере АСУ 155 может быть приспособлен для автоматической инокуляции биореактора 140 при обнаружении любого триггерного события, таким образом, система 10 инокулирует биореактор 140 при достижении заданного триггерного значения ПЖК, хотя может инициировать автоматическую инокуляцию при более низкой ПЖК, если обнаруживается значение измерения уровня лактата, равное или менее заданного триггерного значения на основе лактата, таким образом, обеспечивая инокуляцию биореактора 140 до изменения состояния роста клеток.

В качестве дополнительного примера, АСУ 155 может работать с первым триггерным значением, основанным на целевой ПЖК, вторым триггерным значением, основанным на любой переменной обработки, которая была задана как показатель изменения состояния роста клеток, и третьим триггерным значением, основанным на модели прогнозируемой ПЖК. Прогнозируемое моделью триггерное значение на основе ПЖК может быть установлено на значение, равное максимальному прогнозируемому моделью ПЖК, которое считается приемлемым для данного процесса в системе посевных ферментеров; значение, равное -2,5% максимальной скорости роста клеток; значение, равное -5% максимальной скорости роста клеток; значение, равное -10% максимальной скорости роста клеток; и аналогичное значение. В таком примере АСУ 155 может быть приспособлен для автоматической инокуляции биореактора 140 при обнаружении любого из триггерных событий, таким образом, система 10 инокулирует биореактор 140 при достижении заданного триггерного значения ПЖК, хотя может инициировать инокуляцию при более низкой ПЖК, если обнаруживается значение переменной обработки, которое удовлетворяет условию, которое было задано как показатель изменения состояния роста клеток, с дополнительной мерой предосторожности, заключающейся в том, что более ранняя автоматическая инокуляция также запускается, если обнаружена прогнозируемая модель ПЖК, равная или превышающая заданное триггерное значение, прогнозируемой модели ПЖК. Таким образом, если клеточная культура начинает испытывать увеличение прогнозируемой модели ПЖК до обнаружения заданного триггерного значения ПЖК и без обнаружения какой-либо другой переменной обработки, которая обеспечивает предупреждение об изменении состояния роста клеток, тогда система может запустить автоматическую инокуляцию до возникновения неприемлемого состояния роста клеток.

АСУ 155 может работать с любым количеством заданных триггерных значений на основе любого количества различных переменных процесса, которые могут включать, без ограничения, любое одно или комбинацию из: одного или более питательных веществ (например, аминокислот и витаминов); лактата; сопутствующих факторов; факторов роста; скорости роста клеток; pH; кислорода; азота; численности жизнеспособных клеток; подсчета гибели клеток; кислот; оснований; цитокинов; антител; и метаболитов.

Компьютерная система 150 также может иметь средства управления, позволяющие вносить изменения в систему, включая АСУ 155, в режиме реального времени из интерфейса платформы. Например, может иметься интерфейс, который позволяет пользователю выбирать одно или более условий запуска на основе ряда различных переменных обработки (например, триггерное условие на основе ПЖК; триггерное условие на основе лактата; триггерное условие на основе скорости роста клеток; и т.д.); для ввода желаемого значения для использования в качестве заданного значения величины в триггерном условии (например, значения триггера на основе целевой ПЖК; минимального уровня лактата; максимальной скорости роста клеток и т.д.); и регулирования одного или более заданных триггерных значений. АСУ 155 должен быть способен реагировать на изменение одного или более заданных триггерных значений, чтобы регулировать условия, при которых запускается автоматическая инокуляция.

В первом процессе в системе посевных ферментеров спектральные данные комбинационного рассеяния использовались для создания многомерной модели, основанной на значениях измерений переменных процесса в диапазонах 450-1800 см⁻¹ и 2600-3100 см⁻¹, за исключением значений измерений

в диапазоне $1800 < \lambda < 2600 \text{ см}^{-1}$. Параллельно со спектральными измерениями комбинационного рассеяния были также проведены автономные спектральные измерения с использованием анализатора BioProfile Flex®. Спектральные измерения комбинационного рассеяния проводились каждые 15-60 мин, при этом измерения переменных автономного процесса проводились один раз приблизительно каждые 4 ч, 24 ч, 48 ч и 72 ч после введения криоконсервированного запаса клеток в расширительную камеру 110. На фиг. 5 проиллюстрированы данные двух спектральных измерений вместе с целевой ПЖК (4.0×10^6 клеток/мл) для инокуляции биореактора 140.

Как видно на фиг. 5, два набора спектральных данных были относительно согласованы друг с другом на 24-часовой отметке, что соответствовало второму автономному измерению, хотя начали расходиться приблизительно на 32-часовой отметке. Хотя два набора данных снова сходятся приблизительно на 72-часовой отметке, соответствующей четвертому автономному измерению, наблюдалось максимальное смещение, составляющее приблизительно $2,0 \times 10^6$ клеток/мл при около 48-часовой отметке, соответствующей третьему автономному измерению. Это смещение является значительным. Например, при нацеливании ПЖК на инокуляцию $4,0 \times 10^6$ клеток/мл, если бы АСУ 155 полагался на спектральные данные комбинационного рассеяния, автоматическая инокуляция биореактора 140 происходила бы приблизительно через 44 ч. Однако, основываясь на автономных спектральных данных, автоматическая инокуляция через 44 ч была бы преждевременной, так как ПЖК в это время фактически составляла бы приблизительно $2,5 \times 10^6$ клеток/мл. Вместо этого, предполагая, что автономные спектральные данные точны, целевое значение ПЖК для инокуляции не будет достигнуто приблизительно вплоть до 60 ч. Таким образом, автоматическая инокуляция на основе спектральных данных комбинационного рассеяния могла бы произойти при субоптимальной ПЖК, что могло бы привести к существенному снижению производительности производственного процесса.

Смещение, например, на фиг. 5, может быть проблематичным для точной и надежной инокуляции биореактора. Например, если имеется ошибка в спектральных данных комбинационного рассеяния, то автоматическая инокуляция может быть выполнена слишком рано, до фактического достижения оптимальной ПЖК. С другой стороны, если измерения переменных процесса в автономном режиме выполняются только один раз в несколько часов, то инокуляция вручную может быть выполнена слишком поздно, например, когда инокуляция вручную не выполняется на 48-часовой отметке, если ПЖК ниже целевого значения (как на фиг. 5), и вместо этого выполняется на 72-часовой отметке после превышения целевой ПЖК (фиг. 5).

Стремясь повысить точность и надежность спектральных измерений комбинационного рассеяния света, провели исследование клеточной стимуляции с использованием суспензии клеток СНО при шести различных плотностях, как указано в приведенной ниже таблице I:

Таблица I	
Плотность целевых клеток ($\times 10^6$)	Фактическая плотность клеток (NovaFLEX®, $\times 10^6$)
1	1,03
4	3,85
7	7,68
10	9,39
13	13,09
16	15,65

Спектральные измерения комбинационного рассеяния проводили для шести различных плотностей клеток в трех экземплярах, повторяя время сканирования, используемое при сборе данных комбинационного рассеяния восходящего потока, а график переменного влияния на прогнозирование (VIP) использовали для определения тех областей длин волн спектральных данных комбинационного рассеяния, которые наблюдались, чтобы коррелировать самые сильные с измерениями плотности клеток. Из этого исследования области длин волн $800\text{-}850 \text{ см}^{-1}$; $1260\text{-}1470 \text{ см}^{-1}$; $1650\text{-}1840 \text{ см}^{-1}$; и $2825\text{-}3080 \text{ см}^{-1}$ идентифицировали как наиболее точно информирующие о плотности клеток (фиг. 6).

На фиг. 7 проиллюстрированы результаты сравнительного примера между измерениями, полученными из двух наборов спектральных данных, причем первый основан на спектральных измерениях комбинационного рассеяния, выполненных в соответствии с обычными методами, а второй основан на спектральных измерениях комбинационного рассеяния, выполненных в соответствии с инновационными методами, с обоими наборами данных, построенными относительно автономных спектральных данных. Обычные спектральные измерения комбинационного рассеяния проводили в диапазонах длин волн $450\text{-}1800 \text{ см}^{-1}$ и $2600\text{-}3100 \text{ см}^{-1}$, при этом инновационные спектральные измерения комбинационного рассеяния проводили в диапазонах длин волн $800\text{-}850 \text{ см}^{-1}$; $1260\text{-}1470 \text{ см}^{-1}$; $1650\text{-}1840 \text{ см}^{-1}$; и $2825\text{-}3080 \text{ см}^{-1}$. Как можно видеть, несмотря на то, что оба набора данных комбинационного рассеяния показывают некоторое отклонение от измерений в автономном режиме, измерения, проведенные в соответствии с описанными в данном документе инновационными методами, показали заметно меньшую изменчивость от образца к образцу.

В еще одном аспекте данного изобретения, в дополнение к тому, что компьютерная система 150 сохраняет спрогнозированный технологический параметр из многомерной модели, компьютерная система 150 может сохранять временной ряд спрогнозированных технологических параметров в расширительной камере 110 либо в биореакторе 140. Этот временной ряд может подвергаться методу шумоподавления, который может быть прогнозным или ретроспективным. При включении метода шумоподавления, АСУ 155 может представлять собой регрессионную модель с локальным взвешиванием, как в публикации Cleveland, W.S., Robust Locally Weighted Regression and Smoothing Scatterplots. Journal of the American Statistical Association, Vol. 74, No. 368 (1979): 829-836, которая включена в полном объеме посредством ссылки. Например, весовая функция может быть полиномом пятого порядка, который уменьшает акцент на ранних точках в пакете и подчеркивает последние точки. Предыдущие знания дают способность непосредственного восприятия того, что рост клеток в N-1 является сигмоидальным, что означает, что средняя область роста является приблизительно линейной. Локальные регрессионные модели могут оценивать эту линейность и экстраполировать для обновления прогнозируемого времени инокуляции, а также вычислять время между измерениями, когда расчетное значение процесса будет равно триггерному значению. Этот подход уменьшает вариацию предсказания одного измерения комбинационного рассеяния, как показано на фиг. 8.

Хотя данное изобретение описано со ссылкой на конкретные варианты осуществления изобретения, специалистам в данной области техники будет понятно, что предшествующее раскрытие относится только к типовым вариантам осуществления изобретения; что объем изобретения не ограничивается раскрытыми вариантами осуществления изобретения; и что объем изобретения может охватывать дополнительные варианты осуществления изобретения, охватывающие различные изменения и модификации по сравнению с примерами, раскрытыми в данном документе, без отклонения от объема изобретения, определенного в прилагаемой формуле изобретения и ее эквивалентах.

В той мере, в какой это необходимо для понимания или завершения раскрытия данного изобретения, все публикации, патенты и патентные заявки, упомянутые в данном документе, непосредственно включены в него посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая из них была включена таким образом по отдельности. Никакая лицензия, явно выраженная или подразумеваемая, не предоставляется любому патенту, включенному в данный документ.

Данное изобретение не ограничено типовыми вариантами осуществления изобретения, проиллюстрированными в данном документе, а вместо этого характеризуется прилагаемой формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Система управления процессом в системе посевных ферментеров, содержащая:
 расширительную камеру для получения исходного запаса клеток для размножения до жизнеспособной клеточной культуры;
 биореактор, сообщающийся по текучей среде с расширительной камерой, для получения жизнеспособной клеточной культуры;
 насос для осуществления переноса жизнеспособной клеточной культуры из расширительной камеры в биореактор через канал сообщения по текучей среде между расширительной камерой и биореактором;
 спектрометр комбинационного рассеяния, имеющий по меньшей мере один датчик для мониторинга процесса размножения клеток в расширительной камере с использованием спектрометрии комбинационного рассеяния, при этом спектрометр комбинационного рассеяния приспособлен для генерирования спектральных данных комбинационного рассеяния;
 многомерную модель, которая обеспечивает прогнозирование переменных процесса на основе данных спектра комбинационного рассеяния; и
 компьютерную систему, имеющую сигнальную связь со спектрометром комбинационного рассеяния для приема данных спектров комбинационного рассеяния, и сигнальную связь с насосом для управления работой насоса для осуществления переноса жизнеспособной клеточной культуры из расширительной камеры в биореактор,
 при этом спектрометр комбинационного рассеяния приспособлен для генерирования спектральных данных комбинационного рассеяния, многомерная модель обеспечивает прогнозирование одной или более переменных процесса, а компьютерная система приспособлена для сравнения измерений переменных процесса с одной или более заданными величинами процесса, чтобы определить, удовлетворяют ли одно или более значений измерения переменных процесса заданному триггерному значению, и
 при этом компьютерная система приспособлена, после определения того, что значение измерения переменной процесса в спектральных данных комбинационного рассеяния удовлетворяет заданному триггерному значению, для управления насосом для выполнения автоматического переноса объема клеточной культуры из расширительной камеры в биореактор.

2. Система по п.1, где компьютерная система обрабатывает спектральные данные комбинационного рассеяния, полученные от спектрометра комбинационного рассеяния, для создания многомерной модели

одной или более переменных процесса.

3. Система по п.2, где компьютерная система генерирует модель частичной регрессии методом наименьших квадратов.

4. Система по п.3, где компьютерная система адаптирована, при сравнении прогнозов переменных процесса из многомерной модели с одной или более заданными точками процесса, для использования значений измерений переменных процесса из множества заданных выделенных областей спектральных данных комбинационного рассеяния.

5. Система по п.4, где компьютерная система использует значения измерений переменных процесса из спектральных данных комбинационного рассеяния в диапазонах длин волн $800-850 \text{ см}^{-1}$; $1260-1470 \text{ см}^{-1}$; $1650-1840 \text{ см}^{-1}$; и $2825-3080 \text{ см}^{-1}$.

6. Способ автоматической инокуляции биореактора с применением системы по п.1, включающий: размножение запаса клеток в расширительной камере;

генерирование спектральных данных комбинационного рассеяния с использованием спектрометра комбинационного рассеяния для обеспечения данных для многомерной модели, которая прогнозирует одну или более переменных процесса размножения клеток в расширительной камере;

компьютерную систему, сравнивающую спрогнозированные переменные процесса из многомерной модели с заданными точками процесса в компьютерной системе;

компьютерную систему, управляющую насосом для автоматической инокуляции биореактора жизнеспособной клеточной культурой из расширительной камеры, если компьютерная система определяет, что одна или более спрогнозированных переменных процесса из многомерной модели удовлетворяют заданному триггерному значению.

7. Способ по п.6, где заданное триггерное значение представляет собой значение плотности жизнеспособных клеток.

8. Способ по п.7, где заданное триггерное значение устанавливают на значении плотности жизнеспособных клеток, которое равно или находится в диапазоне -10% от заданной целевой плотности жизнеспособных клеток.

9. Способ по п.6, где заданное триггерное значение представляет собой значение уровня лактата.

10. Способ по п.9, где заданное триггерное значение устанавливают на значении уровня лактата, которое равно или находится в диапазоне $+10\%$ от заданного минимального уровня лактата.

11. Способ по п.6, где заданное триггерное значение представляет собой прогнозируемую модель ПЖК.

12. Способ по п.11, где заданное триггерное значение устанавливают на значении прогнозируемой модели ПЖК, которое равно или находится в диапазоне -10% от заданной максимальной скорости роста клеток.

13. Способ по п.6, где:

компьютерная система сохраняет первое заданное триггерное значение на основании заданной плотности жизнеспособных клеток и сохраняет второе заданное триггерное значение на основании заданной переменной обработки, отличной от плотности жизнеспособных клеток, и

компьютерная система приспособлена для управления насосом для автоматической инокуляции биореактора жизнеспособной клеточной культурой из расширительной камеры, если компьютерная система определяет, что спрогнозированная переменная процесса из многомерной модели удовлетворяет первому либо второму заданному триггерному значению.

14. Способ по п.13, где второе заданное триггерное значение представляет собой значение уровня лактата.

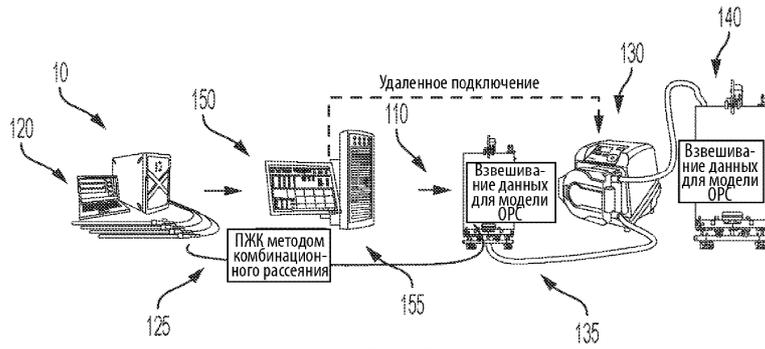
15. Способ по п.13, где первое заданное триггерное значение представляет собой значение модели, прогнозируемой ПЖК.

16. Способ по п.6, где компьютерная система обрабатывает спектральные данные комбинационного рассеяния, полученные от спектрометра комбинационного рассеяния, для создания многомерной модели одной или более переменных процесса и получает значения измерений переменных процесса из многомерной модели для сравнения с заданным триггерным значением.

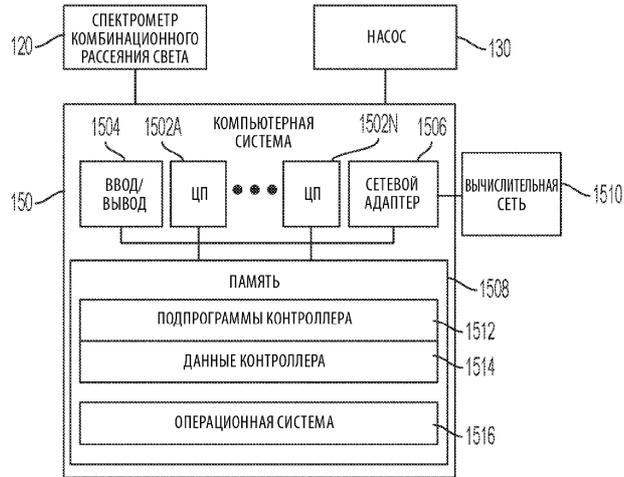
17. Способ по п.16, где компьютерная система генерирует модель частичной регрессии методом наименьших квадратов.

18. Система по п.1, где компьютерная система сохраняет первое заданное триггерное значение на основании заданной плотности жизнеспособных клеток (ПЖК) и сохраняет второе заданное триггерное значение на основании заданной переменной обработки, отличной от ПЖК.

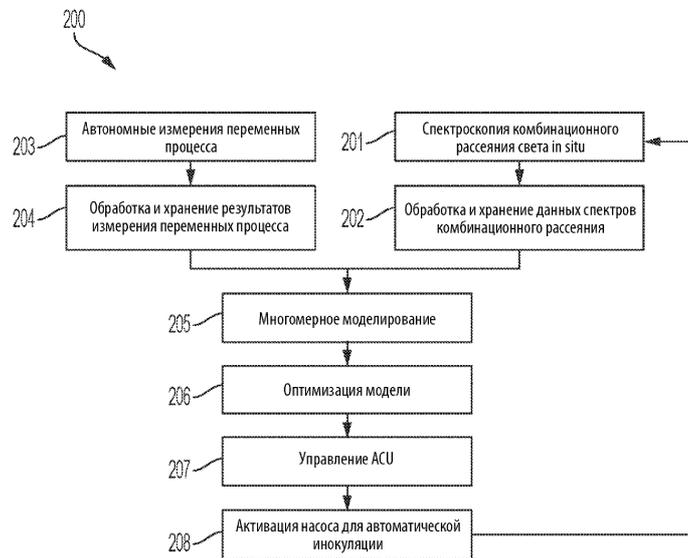
19. Система по п.18, где второе заданное триггерное значение представляет собой значение уровня лактата.



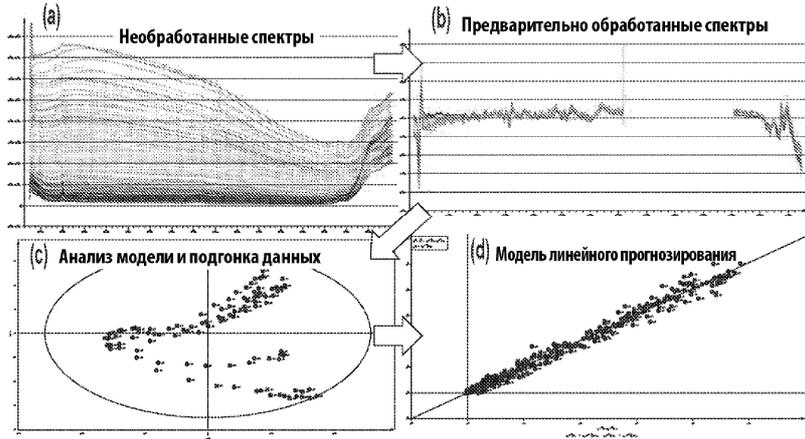
Фиг. 1



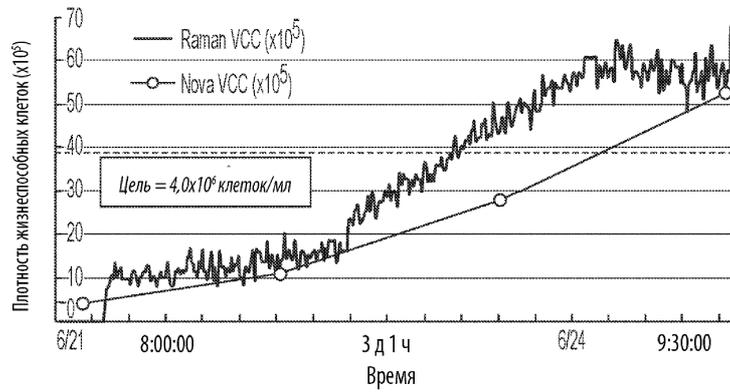
Фиг. 2



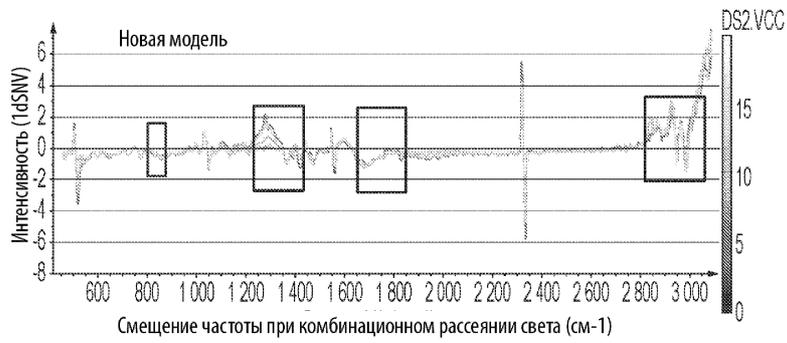
Фиг. 3



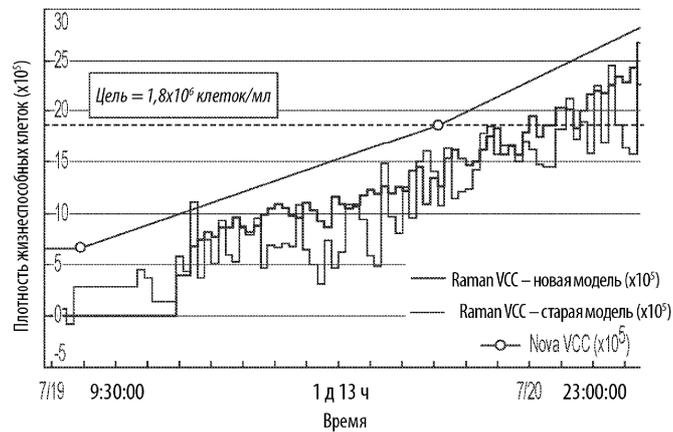
Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8

