

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202391020**

(13) **A1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2023.06.02**

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

(22) Дата подачи заявки  
**2021.09.22**

**(54) ПРОГНОЗИРУЮЩЕЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И УПРАВЛЕНИЕ КУЛЬТУРОЙ КЛЕТОК**

(31) **63/086,417**

(72) Изобретатель:

(32) **2020.10.01**

**Ходабандехлоу Хамид, Ван Тони И.,  
Тулсиан Адитиа (US)**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/051570**

(74) Представитель:

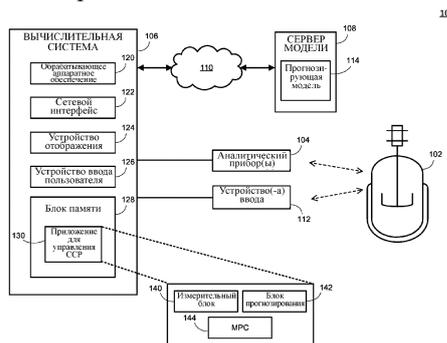
(87) **WO 2022/072198 2022.04.07**

**Медведев В.Н. (RU)**

(71) Заявитель:

**ЭМДЖЕН ИНК. (US)**

(57) Способ управления процессом культивирования клеток включает для каждого временного интервала из одного или нескольких временных интервалов во время процесса культивирования клеток получение текущих значений одной или нескольких характеристик культуры клеток, связанных с культурой клеток, прогнозирование одного или нескольких будущих значений конкретной характеристики культуры клеток, связанной с культурой клеток, и управление одним или несколькими физическими компонентами, вводимыми в процесс культивирования клеток. Прогнозирование будущего(их) значения(ий) включает применение текущих значений характеристики(ик) культуры клеток и более раннего значения по меньшей мере одной из характеристик культуры клеток в качестве компонентов, вводимых в прогнозирующую модель, основанную на данных, использующую архивные данные. Управление физическими вводимыми компонентами включает применение будущего(их) значения(ий) в качестве компонентов, вводимых в контроллер с прогнозированием на основе модели.



**A1**

**202391020**

**202391020**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-577745EA/019

### ПРОГНОЗИРУЮЩЕЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И УПРАВЛЕНИЕ КУЛЬТУРОЙ КЛЕТОК

Область техники, к которой относится изобретение

[1] Настоящее изобретение относится в целом к культурам клеток (например, в биореакторе), и в частности к прогнозированию и управлению характеристиками культуры клеток (измеренных или неизмеренных) на основании измеренных значений характеристик культуры клеток.

Предпосылки изобретения

[2] При производстве определенных биофармацевтических продуктов (например, биотерапевтических белков) для культивирования клеток перед получением желаемого продукта в виде лекарственного средства используются биореакторы. Устойчивое производство таких продуктов в виде лекарственного средства обычно требует того, чтобы биореактор поддерживал сбалансированные и постоянные параметры (например, клеточные метаболические концентрации), что, в свою очередь, требует строгого мониторинга процесса и управления им. Однако, по причине того, что среда культивирования клеток является динамической и сложной, обычно трудно применять физические компоненты, вводимые в процесс культивирования клеток (например, объемы подпитки, температуру, вводимую глюкозу и т. д.), таким образом, чтобы получить желаемые характеристики культуры клеток (например, плотность жизнеспособных клеток, уровень глюкозы и т. д.). Были предприняты различные усилия по оптимизации процесса культивирования клеток, в том числе усилия по моделированию физических компонентов, вводимых в процесс культивирования клеток, и управлению ими. Однако, несмотря на то, что был достигнут определенный прогресс, моделирование и управление остаются значительной проблемой из-за сложного, нелинейного поведения процесса культивирования клеток, отсутствия соответствующих измерений и отсутствия доступных экспериментальных данных.

[3] Обычно управление уровнями питательных веществ в биореакторах осуществляют или вручную, или с использованием традиционных пропорционально-интегрально-дифференциальных (PID) контроллеров посредством подпиток в виде болюса (см. Mehdizadeh и соавт., «*Generic Raman-Based Calibration Models Enabling Real-Time Monitoring of Cell Culture Bioreactors*», *Biotechnol. Prog.* 31(4), 2015 г., стр. 1004-1013). Хотя управление вручную и с помощью PID-контроллеров дал приемлемые результаты, производственный процесс по-прежнему имеет множество возможностей для дальнейшей оптимизации, например для максимизации роста, выхода продукции или оптимального контроля качества продукта. Для моделирования биопроцессов также были предложены механистические математические модели. Например, для контроля уровня глюкозы в биореакторе опытной установки вместе с контроллером с прогнозированием на основе модели (MPC) была предложена механистическая модель, основанная на основных

принципах, (см. Craven и соавт., «*Glucose Concentration Control of a Fed-Batch Mammalian Cell Bioprocess Using a Nonlinear Model Predictive Controller*», *Journal of Process Control*, 24(4), 2014 г., стр. 359-366), где для контроля биореактора в модели использовались скорость изменения переменных состояния процесса и нелинейный MPC. В этом подходе для моделирования биореактора использовались несколько обыкновенных дифференциальных уравнений первого порядка. Однако для получения точной окончательной модели биореактора этот механистический подход требует применения к модели обширных знаний о процессе, что приводит к сложной гибридной модели.

Краткое изложение сущности изобретения

[4] В системах и способах, описанных в данном документе, для построения динамической модели процесса культивирования клеток обычно используются архивные результаты измерений и машинное обучение. Например, для обучения динамической прогнозирующей модели, основанной на данных, можно использовать архивные (измеренные) концентрации метаболитов из реальных процессов культивирования клеток. При применении к реальному процессу модель может прогнозировать будущие характеристики культуры клеток (например, будущие уровни метаболитов) на основании текущих измерений (например, выполняемых в реальном времени) культуры клеток. В модели также используются измерения, выполненные в один или несколько более ранних временных интервалов (например, с использованием уровней метаболитов, измеренных в текущий день, а также в один или несколько дней до текущего дня). Модель может представлять собой, например, нейронную сеть или регрессионную модель. Прогнозы, выдаваемые моделью, могут представлять собой компоненты, вводимые в контроллер с прогнозированием на основе модели (MPC), при этом MPC имеет целевую функцию, установленную для максимизации желаемой характеристики культуры клеток (например, плотности жизнеспособных клеток, общей плотности клеток и т. д.). MPC может предпринимать соответствующее действие или действия по управлению (например, добавление глюкозы в биореактор) для управления культурой клеток и ее контроля таким образом, чтобы направлять процесс культивирования клеток к желаемой цели (например, максимальной плотности жизнеспособных клеток и т. д.).

[5] Методы, описанные в данном документе, могут устранять необходимость в ручной выборке характеристик культуры клеток и/или ручной регулировке контрольных уставок. Более того, благодаря учету нелинейного поведения культур клеток и архивных значений результатов измерения эти методы могут обеспечивать повышенную точность прогнозирования по сравнению с другими методами моделирования и управления. Динамическая модель процесса с MPC может обеспечивать двунаправленный поток данных с возможностью регулировки и обучения процесса культивирования клеток в реальном времени.

Краткое описание графических материалов

[6] Специалисту в данной области техники понятно, что фигуры, описанные в данном документе, включены для целей иллюстрации, а не ограничения настоящего

изобретения. Графические материалы не обязательно изображены в масштабе, акцент делается на иллюстрацию принципов настоящего изобретения. Следует понимать, что в некоторых случаях различные аспекты описанных вариантов реализации могут быть укрупнены или увеличены для улучшения понимания описанных вариантов реализации. На графических материалах подобные ссылочные позиции на разных фигурах в целом выполняют одинаковые функции и/или являются структурно одинаковыми компонентами.

[7] На фиг. 1 представлена упрощенная блок-схема примера системы, которая может быть использована для мониторинга процесса культивирования клеток и управления им.

[8] На фиг. 2 представлена блок-схема примера модели, которую можно реализовать в системе, представленной на фиг. 1.

[9] На фиг. 3 изображен пример работы контроллера с прогнозированием на основе модели, который можно использовать в качестве контроллера с прогнозированием на основе модели, представленного на фиг. 1 и/или фиг. 2.

[10] На фиг. 4 изображен пример последовательности прогнозов, выполняемых прогнозирующей моделью, представленной на фиг. 1 и/или фиг. 2.

[11] На фиг. 5 изображен пример нейронной сети, которую можно использовать в качестве прогнозирующей модели, представленной на фиг. 1 и/или фиг. 2.

[12] На фиг. 6А-6Е представлены примеры графиков со сравнением измеренных и прогнозируемых значений разных характеристик культуры клеток при использовании нейронной сети и усеченного набора результатов измерений метаболитов.

[13] На фиг. 7А-7Е представлены примеры графиков со сравнением измеренных и прогнозируемых значений разных характеристик культуры клеток при использовании регрессионной модели второго порядка и усеченного набора результатов измерений метаболитов.

[14] На фиг. 8А-8Е представлены примеры графиков со сравнением измеренных и прогнозируемых значений разных характеристик культуры клеток при использовании регрессионной модели третьего порядка и усеченного набора результатов измерений метаболитов.

[15] На фиг. 9А-9J представлены примеры графиков со сравнением измеренных и прогнозируемых значений разных характеристик культуры клеток при использовании нейронной сети и полного набора результатов измерений метаболитов.

[16] На фиг. 10А-10J представлены примеры графиков со сравнением измеренных и прогнозируемых значений разных характеристик культуры клеток при использовании регрессионной модели второго порядка и полного набора результатов измерений метаболитов.

[17] На фиг. 11А-11J представлены примеры графиков со сравнением измеренных и прогнозируемых значений разных характеристик культуры клеток при использовании регрессионной модели третьего порядка и полного набора результатов измерений метаболитов.

[18] На фиг. 12 представлена схема последовательности операций примера способа управления процессом культивирования клеток.

Подробное описание

[19] Различные концепции, представленные выше и более подробно обсужденные далее, могут быть реализованы многими способами, и описанные концепции не ограничены каким-либо определенным способом реализации. Примеры вариантов реализации представлены для иллюстративных целей.

[20] На фиг. 1 представлена упрощенная блок-схема примера системы 100, которая может быть использована для ручного мониторинга процесса культивирования клеток и управления им. Система 100 содержит биореактор 102, один или несколько аналитических приборов 104, вычислительную систему 106, сервер 108 модели, сеть 110 и одно или несколько устройств 112 ввода.

[21] Биореактор 102 может представлять собой любой подходящий сосуд, устройство или систему, поддерживающую культуру клеток, которая может содержать живые организмы и/или полученные из них вещества в питательной среде. Биореактор 102 может содержать рекомбинантные белки, экспрессируемые культурой клеток, например, для исследовательских целей, клинического применения, коммерческой продажи или другого распространения. В зависимости от биофармацевтического процесса, мониторинг которого осуществляется, питательная среда может содержать определенную текучую среду (например, «бульон») и конкретные питательные вещества и может характеризоваться целевым уровнем или диапазоном pH, целевой температурой или температурным диапазоном и т. д.

[22] Аналитический (аналитические) прибор (приборы) 104 соединен (соединены) с возможностью осуществления связи с вычислительной системой 106 и может (могут) включать любой прибор, или приборы, «в линии», «у линии» и/или «вне линии», выполненные с возможностью измерения одной или нескольких характеристик культуры клеток в биореакторе 102. Например, аналитический (аналитические) прибор (приборы) 104 может (могут) измерять одну или несколько концентраций компонентов питательной среды, таких как уровни метаболитов (например, глюкозы, лактата, натрия, калия, глутамина, аммония и т. д.). Дополнительно или альтернативно аналитический (аналитические) прибор (приборы) 104 может (могут) измерять осмоляльность, плотность жизнеспособных клеток (VCD), общую плотность клеток (TCD), жизнеспособность и/или одну или несколько других характеристик культуры клеток, связанных с содержимым биореактора 102.

[23] В то время как в некоторых вариантах осуществления в аналитическом (аналитических) приборе (приборах) 104 могут использоваться разрушающие методы анализа, в других вариантах осуществления в одном, некоторых или всех аналитических приборах 104 могут использоваться неразрушающие методы анализа (например, «мягкое обнаружение»). Например, аналитический (аналитические) прибор (приборы) 104 может (могут) включать рамановский анализатор со спектрографом и один или несколько

зондов. Рамановский анализатор может содержать источник лазерного излучения, доставляющий лазерное излучение в зонд (зонды) по соответствующим оптоволоконным кабелям, а также может содержать устройство с зарядовой связью (CCD) или другую подходящую камеру/регистрирующее устройство для регистрации сигналов, принимаемых из зонда (зондов), по другим каналам соответствующих оптоволоконных кабелей. Альтернативно источник (источники) лазерного излучения может (могут) быть встроен (встроены) в зонд (зонды). Каждый зонд может представлять собой погружной зонд или зонд любого другого подходящего типа (например, зонд на основе отражения или зонд на основе пропускания). Анализатор и зонд (зонды) могут неразрушающим образом сканировать соответствующую характеристику культуры клеток в биореакторе 102 путем возбуждения, наблюдения и регистрации молекулярных «отпечатков пальцев» процесса культивирования клеток. Молекулярные «отпечатки пальцев» соответствуют колебательным, вращательным и/или другим низкочастотным модам молекул в биологически активном содержимом при возбуждении этого содержимого лазерным излучением, доставляемым при помощи зонда (зондов). В результате этого процесса сканирования рамановский анализатор генерирует один или несколько векторов рамановского сканирования, каждый из которых представляет интенсивность как функцию рамановского сдвига (частоты). Затем рамановский анализатор может анализировать вектор (векторы) рамановского сканирования с целью определения (например, выведения) значений соответствующих характеристик культуры клеток (например, концентраций глюкозы и/или других метаболитов).

[24] Устройство (устройства) 112 ввода также соединено (соединены) с возможностью осуществления связи с вычислительной системой 106 и может (могут) представлять собой любое устройство или устройства, доставляющие физические компоненты, вводимые в содержимое биореактора 102. Например, устройство (устройства) 112 ввода может (могут) включать насос для глюкозы, устройство, добавляющее управляемое количество подпитки в биореактор, и/или устройство, подающее тепло в биореактор 102 и его содержимое и/или обеспечивающее их охлаждение. В целом устройство (устройства) 112 ввода может (могут) включать насосы, клапаны и/или управляющий (управляющие) элемент (элементы) любого другого подходящего типа (типов). Например, устройство (устройства) 112 ввода может (могут) содержать пропорционально-интегрально-дифференциальные (PID) контроллеры и принимать уставки из вычислительной системы 106 в качестве компонентов, вводимых, например, в PID-контроллеры.

[25] Сервер 108 модели содержит обрабатывающее аппаратное обеспечение и запоминающее устройство (не показано на фиг. 1), и в нем хранится прогнозирующая модель 114, которая будет более подробно рассмотрена ниже. Функциональные возможности сервера 108 модели, описанного в данном документе, могут обеспечиваться обрабатывающим аппаратным обеспечением сервера 108 модели при исполнении команд, хранящихся, например, в запоминающем устройстве сервера 108 модели. Сеть 110

связывает сервер 108 модели с вычислительной системой 106 и может представлять собой одну сеть связи или может содержать несколько сетей связи одного или нескольких типов (например, одну или несколько проводных и/или беспроводных локальных вычислительных сетей (LAN) и/или одну или несколько проводных и/или беспроводных глобальных вычислительных сетей (WAN), таких как, например, интернет или сеть Интранет).

[26] Вычислительная система 106 может представлять собой сервер, настольный компьютер, портативный компьютер, планшетное устройство или любой другой подходящий тип вычислительного устройства или вычислительных устройств. В примере варианта осуществления, показанном на фиг. 1, вычислительная система 106 содержит обрабатывающее аппаратное обеспечение 120, сетевой интерфейс 122, устройство 124 отображения, устройство 126 ввода пользователя и блок 128 памяти. Однако в некоторых вариантах осуществления вычислительная система 106 содержит два или более компьютеров, которые либо расположены вместе, либо удалены друг от друга. В этих распределенных вариантах осуществления описанные в данном документе операции, относящиеся к обрабатывающему аппаратному обеспечению 120, сетевому интерфейсу 122 и/или блоку 128 памяти, могут быть разделены между несколькими блоками обработки, сетевыми интерфейсами и/или блоками памяти соответственно.

[27] Обрабатывающее аппаратное обеспечение 120 содержит один или несколько процессоров, каждый из которых может представлять собой программируемый микропроцессор, который исполняет программные команды, хранящиеся в блоке 128 памяти, с целью исполнения некоторых или всех функций вычислительной системы 106, описанных в данном документе. Альтернативно некоторые из процессоров в обрабатывающем аппаратном обеспечении 120 могут представлять собой процессоры других типов (например, специализированные интегральные схемы (ASIC), программируемые пользователем вентильные матрицы (FPGA) и т. д.), и некоторые функциональные возможности вычислительной системы 106, описанной в настоящем документе, вместо этого могут быть частично или полностью реализованы при помощи такого аппаратного обеспечения. Блок 128 памяти может содержать одно или несколько физических запоминающих устройств или блоков, содержащих энергозависимое и/или энергонезависимое запоминающее устройство. Могут использоваться запоминающие устройства любого подходящего типа или типов, такие как постоянное запоминающее устройство (ROM), твердотельные накопители (SSD), накопители на жестких дисках (HDD) и т. д.

[28] Сетевой интерфейс 122 может содержать любое подходящее аппаратное обеспечение (например, клиентское приемопередающее оборудование), программно-аппаратное обеспечение и/или программное обеспечение, выполненные с возможностью осуществления связи по сети 110 с использованием одного или нескольких протоколов связи. Например, сетевой интерфейс 122 может представлять собой или содержать интерфейс Ethernet.

[29] Устройство 124 отображения может использовать любую подходящую технологию отображения (например, LED, OLED, LCD и т. д.) для представления информации пользователю, и устройство 126 ввода пользователя может представлять собой клавиатуру или другое подходящее устройство ввода. В некоторых вариантах осуществления устройство 124 отображения и устройство 126 ввода пользователя интегрированы в одно устройство (например, сенсорный дисплей). В общем, устройство 124 отображения и устройство 126 ввода пользователя совместно могут позволить пользователю взаимодействовать с графическими пользовательскими интерфейсами (GUI), предоставленными вычислительной системой 106, например, для таких целей, как мониторинг процесса культивирования клеток, происходящего в биореакторе 102. Однако в некоторых вариантах осуществления вычислительная система 106 не содержит устройство 124 отображения и/или устройство 126 ввода пользователя.

[30] В блоке 128 памяти хранятся команды одного или нескольких программных приложений, включая приложение 130 для управления процессом культивирования клеток (ССР). Приложение 130 для управления ССР при исполнении обрабатываемым аппаратным обеспечением 120 в целом выполнено с возможностью осуществления связи с аналитическим (аналитическими) прибором (приборами) 104, сервером 108 модели и устройством (устройствами) 112 ввода для получения измеренных (или основанных на результатах измерений) значений характеристик культуры клеток, прогнозирования будущих значений характеристик культуры клеток на основании измеренных/полученных значений и управления одним или несколькими компонентами, вводимыми в процесс культивирования клеток на основании прогнозируемых будущих значений (например, полностью в реальном времени). Для этого приложение 130 для управления ССР содержит измерительный блок 140, блок 142 прогнозирования и контроллер 144 с прогнозированием на основе модели (МРС). Следует понимать, что различные блоки приложения 130 для управления ССР могут быть распределены по разным программным приложениям и/или что функциональные возможности любого такого блока могут быть разделены между разными программными приложениями.

[31] Измерительный блок 140 может получать (например, запрашивать или иначе осуществлять мониторинг) результаты измерений, произведенных аналитическим (аналитическими) прибором (приборами) 104, один раз за временной интервал для любого желаемого количества временных интервалов (например, один раз в день, один раз в час и т. д.). В некоторых вариантах осуществления измерительный блок 140 определяет одно или несколько значений характеристик культуры клеток путем обработки значений, полученных из аналитического (аналитических) прибора (приборов) 104. Например, измерительный блок 140 может определять среднюю концентрацию метаболитов один раз за временной интервал (например, один раз в день) на основании результатов измерений метаболитов, предоставляемых одним из аналитических приборов 104 на более частой основе (например, один раз в 15 минут, один раз в час и т. д.). В качестве другого примера, для определения или вывода значений одной или нескольких характеристик

культуры клеток (как рассмотрено выше) измерительный блок 140 может выполнять анализ векторов рамановского сканирования, предоставляемых спектрографом аналитического (аналитических) прибора (приборов) 104. В некоторых вариантах осуществления измерительный блок 140 (или другой блок, приложение, устройство или вычислительная система) выполняет определение значений характеристик культуры клеток (например, концентраций метаболитов) на основании векторов рамановского сканирования с использованием обучения «точно в срок» (JITL) согласно любому из вариантов осуществления, описанных в патентной заявке PCT с № PCT/US2019/057513, поданной 23 октября 2019 г. и озаглавленной «Automatic Calibration and Automatic Maintenance of Raman Spectroscopic Models for Real-Time Predictions», описание которой полностью включено в данный документ посредством ссылки. В целом, в контексте данного документа для простоты объяснения такие термины, как «измеренный» и «результат измерения», используются в широком смысле для обозначения физически/непосредственно измеренного значения, мягко обнаруженного значения или значения, полученного из (например, рассчитанного с использованием) физически/непосредственно измеренного или мягко обнаруженного значения, если контекст их использования явно не указывает на более конкретный смысл.

[32] Блок 142 прогнозирования может предоставлять измеренные значения характеристик культуры клеток в сервер 108 модели, заставляя вычислительную систему 106 передавать данные измерений в сервер 108 модели через сетевой интерфейс 122 и сеть 110. Сервер 108 модели затем применяет значения характеристик культуры клеток в качестве компонентов, вводимых в прогнозирующую модель 114. Прогнозирующая модель 114 представляет собой модель с использованием машинного обучения, основанную на данных, которая прогнозирует одно или несколько будущих значений по меньшей мере одной характеристики культуры клеток на основании компонентов, вводимых в модель. Данные, вводимые в модель, включают одно или несколько текущих измеренных значений характеристик культуры клеток для каждого временного интервала, а также измеренные значения из одного или нескольких предыдущих временных интервалов или имитируемое значение для по меньшей мере одной из этих характеристик культуры клеток. Например, прогнозирующая модель 114 может прогнозировать будущую концентрацию глюкозы (например, в каждый из  $x$  будущих временных интервалов, где  $x$  представляет собой целое число больше нуля) на основании концентраций глюкозы, измеренных в текущий день и предыдущий день. В качестве другого примера, прогнозирующая модель 114 может прогнозировать будущую VCD, TCD или жизнеспособность (например, в каждый из  $x$  будущих временных интервалов, где  $x$  представляет собой целое число больше нуля) на основании различных концентраций метаболитов, измеренных в текущий день и каждый из предыдущих двух дней.

[33] Прогнозирующая модель 114 может представлять собой нейронную сеть, такую как нейронная сеть прямого распространения или рекуррентная нейронная сеть,

которая была обучена с использованием архивных значений измеренных характеристик культуры клеток (т. е. компонентов, вводимых в модель) и соответствующих реальных результатов (т. е. меток для обучения с участием оператора). Примеры таких нейронных сетей рассмотрены ниже в связи с фиг. 5.

[34] В других вариантах осуществления прогнозирующая модель 114 представляет собой регрессионную модель. Например, прогнозирующая модель 114 может представлять собой регрессионную модель второго порядка, третьего порядка или более высокого (четвертого, пятого, шестого и т. д.) порядка или комбинацию регрессионных моделей разного порядка. В контексте данного документа термин «порядок» относится к максимальному количеству разных временных интервалов, отражаемых в результатах измерений, которые используются в качестве компонентов, вводимых в модель, при формировании прогноза одного или нескольких значений в будущие временные интервалы. Для ясности, регрессионная модель, в которой по меньшей мере один раз используется регрессионная модель  $n$ -го порядка (в модели, где используются порядки, которые включают  $n$  и один или несколько из  $n-1$ ,  $n-2$ ...), будет считаться регрессионной моделью  $n$ -го порядка. В одном примере модель, в которой используются и модели второго порядка, и модели третьего порядка, будет считаться регрессионной моделью третьего порядка. Таким образом, например, регрессионная модель, которая работает с измеренными концентрациями метаболитов в текущий день и предыдущий день, будет считаться регрессионной моделью второго порядка, в то время как регрессионная модель, которая работает с концентрациями метаболитов в текущий день, предыдущий день и день до предыдущего дня, будет считаться регрессионной моделью третьего порядка. В более общем смысле, регрессионная модель второго порядка для по меньшей мере одной характеристики культуры клеток, используемой в качестве компонентов, вводимых в модель, будет работать с результатами измерений, полученными во временные интервалы  $k$  и  $(k-x)$ , а регрессионная модель третьего порядка для по меньшей мере одной характеристики культуры клеток, используемой в качестве компонентов, вводимых в модель, будет работать с результатами измерений, полученными во временные интервалы  $k$ ,  $(k-x)$  и  $(k-y)$ , где  $x$  представляет собой любое целое число больше нуля, и  $y$  представляет собой любое целое число больше  $x$ . Регрессионная модель 114 может быть линейной или нелинейной в зависимости от варианта осуществления.

[35] По причине того, что регрессионные модели третьего порядка требуют результатов измерения из двух более ранних временных интервалов (например, двух предыдущих дней), может быть невозможным использовать такую модель для первых двух временных интервалов (например, Дня 0 и Дня 1). Поэтому в некоторых вариантах осуществления блок 142 прогнозирования по фиг. 1 сначала использует регрессионную модель второго порядка (например, начиная со второго временного интервала), а затем впоследствии (например, начиная с третьего временного интервала) переключается на регрессионную модель третьего порядка. В других вариантах осуществления для начального (начальных) временного интервала (временных интервалов) в блоке 142

прогнозирования используются другие методы (например, в первом временном интервале путем простого приравнивания двух значений «предыдущего результата измерения» значению текущего результата измерения).

[36] Также возможны модели других типов. Однако нейронные сети и регрессионные модели более высокого порядка могут предоставлять преимущества перед моделями некоторых других типов. Например, было обнаружено, что регрессионные модели на основе опорных векторов, регрессионные модели на основе гауссова процесса и регрессионные модели на основе случайного леса характеризуются относительно большой ошибкой прогнозирования. Дополнительно, было обнаружено, что сети эхо-состояний (ESN) являются высокочувствительными к погрешности измерений, хотя такие модели могут быть подходящими для прогнозирования в начальный временной интервал (например, день первый).

[37] Сервер 108 модели может исполнять прогнозирующую модель 114 и обмениваться данными с вычислительной системой 106, например как часть модели, использующей веб-сервисы. Однако в других вариантах осуществления система 100 не содержит сервер 108 модели, и в вычислительной системе 106 прогнозирующая модель 114 (например, в блоке 128 памяти) локально хранится (и, возможно, обучается), и прогнозирующая модель 114 локально исполняется (например, обрабатываемым аппаратным обеспечением 120 при исполнении команд блока 142 прогнозирования). В показанном иллюстративном варианте осуществления для каждого временного интервала сервер 108 модели применяет соответствующие компоненты (измеренные значения характеристик культуры клеток), вводимые в прогнозирующую модель 114, и возвращает прогнозируемое (прогнозируемые) будущее (будущие) значение (значения) в блок 142 прогнозирования через сеть 110. В приложении 130 для управления ССР может (могут) храниться будущее (будущие) значение (значения) в блоке 128 памяти (или другом подходящем запоминающем устройстве), и оно применяет будущее (будущие) значение (значения) (или значения, которые приложение 130 для управления ССР получает на их основе) в качестве компонентов, вводимых в MPC 144.

[38] MPC 144 работает с прогнозируемым (прогнозируемыми) будущим (будущими) значением (значениями) характеристики культуры клеток и, возможно, с другой информацией с целью генерирования управляющего сигнала для одного из устройств 112 ввода. Например, вычислительная система 106 может отправлять в насос для глюкозы из числа устройств 112 ввода команду, которая соответствует протоколу, распознаваемому насосом, и указывает желаемое вводимое количество глюкозы (или временной интервал введения и т. д.), которое насос должен добавить или применить к содержимому биореактора 102. MPC, которые можно использовать в качестве MPC 144, более подробно рассмотрены ниже со ссылкой на фиг. 2 и 3.

[39] В сервере 108 модели может храниться только одна прогнозирующая модель 114, или могут храниться несколько прогнозирующих моделей, каждая из которых выдает/прогнозирует будущие значения для отличающейся характеристики культуры

клеток. В последнем случае различные модели могут работать с одним и тем же набором или разными наборами компонентов, вводимых в модель, в зависимости от варианта осуществления. Прогнозирующие модели могут относиться к одному и тому же типу (например, все могут представлять собой регрессионные модели третьего порядка) или к разным типам (например, представлять собой нейронную сеть прямого распространения для прогнозирования VCD, и регрессионные модели третьего порядка для прогнозирования концентраций глюкозы и лактата). В каждом из этих вариантов осуществления блок 142 прогнозирования может предоставлять необходимые вводимые компоненты (например, текущие и прошлые значения характеристик культуры клеток) в сервер 108 модели через сеть 110, и сервер 108 модели может исполнять прогнозирующие модели с целью прогнозирования (и возвращения в вычислительную систему 106) одного или нескольких будущих значений для каждой из разных прогнозируемых характеристик культуры клеток (например, VCD, TCD, концентрации глюкозы и т. д.). MPC 144 в таких вариантах осуществления может включать один MPC на прогнозируемую характеристику культуры клеток (например, один MPC для VCD, один для TCD и т. д.), причем каждый MPC генерирует управляющий сигнал для другого устройства из числа устройств 112 ввода. Альтернативно приложение 130 для управления ССР применяет прогнозируемые значения для нескольких характеристик культуры клеток к одному MPC. Несмотря на то, что нижеследующее описание сосредоточено на прогнозируемых будущих значениях одной характеристики культуры клеток, которые используются в качестве компонентов, вводимых в один MPC 144, понятно, что могут быть дополнительные прогнозируемые характеристики культуры клеток и/или дополнительные MPC.

[40] В некоторых вариантах осуществления приложение 130 для управления ССР также выполнено с возможностью представления (пользователю) такой информации, как измеренные значения (например, компоненты, вводимые в прогнозирующую модель 114) и/или будущие значения, выдаваемые прогнозирующей моделью 114 (например, для того, чтобы обеспечить возможность одновременного ручного мониторинга/наблюдения за процессом культивирования клеток). Например, приложение 130 для управления ССР может генерировать и/или заполнять график, на котором показаны прошлые, текущие и прогнозируемые/будущие значения характеристик культуры клеток, и обеспечивать отображение графика устройством 124 отображения. Альтернативно или дополнительно приложение 130 для управления ССР может заставить устройство 124 отображения показывать значения в формате таблицы и/или в каком-либо другом подходящем формате. В других вариантах осуществления приложение 130 для управления ССР не отвечает за отображение какому-либо пользователю какой-либо информации.

[41] Понятно, что вместо показанных на фиг. 1 могут использоваться другие конфигурации и/или компоненты. Например, другое вычислительное устройство или система (не показанная на фиг. 1), может передавать измерения, предоставленные аналитическим (аналитическими) прибором (приборами) 104, в сервер 108 модели, одно или несколько дополнительных вычислительных устройств или систем могут выполнять

роль посредников между вычислительной системой 106 и сервером 108 модели, некоторые функциональные возможности вычислительной системы 106, описанной в настоящем документе, вместо этого могут выполняться удаленно сервером 108 модели и/или другим удаленным сервером и т. д.

[42] На фиг. 2 представлена блок-схема примера архитектуры 200, которую можно реализовать в такой системе, как система 100, представленная на фиг. 1. На фиг. 2 процесс 202 культивирования клеток происходит в сосуде (например, в биореакторе 102, представленном на фиг. 1). Различные результаты 204 измерений культуры клеток (т. е. измеренные значения характеристик культуры клеток) получают с использованием одного или нескольких приборов, таких как аналитический (аналитические) прибор (приборы) 104 по фиг. 1. Результаты 204 измерений культуры клеток могут включать концентрации одного, некоторых или всех из набора метаболитов (например, глюкозы, лактата, натрия, калия, аммония и/или глутамин) в культуре клеток. В некоторых вариантах осуществления результаты 204 измерений культуры клеток также (или вместо этого) содержат один или несколько других типов измеренных характеристик культуры клеток, таких как VCD, TCD, жизнеспособность, осмоляльность и т. д.

[43] Результаты 204 измерений культуры клеток предоставляются в качестве компонентов, вводимых (например, блоком 142 прогнозирования и/или сервером 108 модели) в прогнозирующую модель 206, которая может быть такой же, как, например, прогнозирующая модель 114, представленная на фиг. 1. На фиг. 2 для указания того, что в качестве компонентов, вводимых в прогнозирующую модель 206, также предоставляются прошлые результаты 204 измерений культуры клеток, используются элементы задержки ( $z^{-1}$  и  $z^{-2}$ ). На фиг. 2 показан вариант осуществления модели третьего порядка (регрессионной модели или нейронной сети), в котором прогнозирующая модель 206 работает со значениями из текущего временного интервала (например, текущего дня или текущего часа и т. д.) и предыдущих двух временных интервалов (например, предыдущих двух дней) для всех результатов 204 измерений культуры клеток. Однако в других вариантах осуществления прошлые значения используются только для подмножества результатов 204 измерений культуры клеток, и/или прогнозирующая модель имеет другой порядок (например, второй порядок, четвертый порядок и т. д.).

[44] В каждом временном интервале прогнозирующая модель 206 обрабатывает компоненты, вводимые в модель (например, текущие и прошлые измеренные значения), с целью генерирования прогнозируемых значений характеристики культуры клеток в течение конечного горизонта управления (например, в следующие четыре временных интервала или следующие шесть временных интервалов и т. д.) MPC 208. Характеристика, для которой прогнозируется (прогнозируются) будущее (будущие) значение (значения), может представлять собой характеристику, которая также была измерена и использована в качестве компонентов, вводимых в модель, или может представлять собой характеристику, которая не была измерена и использована в качестве компонентов, вводимых в модель, в зависимости от варианта осуществления. Прогнозирующая модель

206 может прогнозировать, например, будущие концентрации метаболитов (например, глюкозы). В некоторых вариантах осуществления архитектура 200 содержит несколько прогнозирующих моделей, подобных прогнозирующей модели 206, но каждая из них прогнозирует значения отличающейся характеристики культуры клеток.

[45] В каждом временном интервале иллюстративный MPC 208 работает с прогнозируемым (прогнозируемыми) будущим (будущими) значением (значениями) и, возможно, с другой информацией с целью генерирования управляющего сигнала (например, уставки) для по меньшей мере одного из устройств 112 ввода, например, с использованием прогнозирующей последовательной оптимизации траектории. MPC 208 может применять измеренное/вводимое (измеренные/вводимые) значение (значения) характеристики культуры клеток в качестве независимых переменных целевой функции с одним или несколькими членами, причем зависимая (зависимые) переменная (переменные) целевой функции представляет собой (представляют собой) прогнозируемое (прогнозируемые) значение (значения). Затем MPC 208 может определять оптимальное (оптимальные) значение (значения) независимой переменной, например, значение (значения), при которых минимизируется целевая функция (или «функция стоимости»), подверженная нескольким ограничениям в отношении зависимых и/или независимых переменных. Ограничения могут включать, например, «нуль» как минимальную концентрацию метаболитов, максимальную скорость введения, связанную с насосом для глюкозы, и/или другие подходящие ограничения. Целевая функция может содержать один член или несколько членов (например, по одному члену для каждой из нескольких компонентов, вводимых в процесс, которыми управляет приложение 130 для управления ССР, таких как концентрация глюкозы, объем добавляемой подпитки и т. д.), установленных так, что оптимизация достигается, когда соответствующая характеристика культуры клеток (например, концентрация метаболитов) достигает некоторого желаемого предварительно определенного значения, или с целью максимизации определенной характеристики культуры клеток (например, VCD, TCD, жизнеспособности и т. д.). Затем MPC 208 может определять контрольную уставку для направления процесса культивирования клеток к желаемой цели (например, к максимизированному VCD и т. д.).

[46] В примере по фиг. 2 MPC 208 предоставляет одну или несколько уставок, в том числе объем подпитки, добавляемой в биореактор (например, биореактор 102), причем MPC 208 предоставляет объем подпитки не только в процесс 208 культивирования клеток (или, точнее, в устройство ввода, управляющее количеством добавляемой подпитки), но и в прогнозирующую модель 206. В этом примере в прогнозирующей модели 206 в качестве одной из компонентов, вводимых в модель, наряду с результатами 204 измерений культуры клеток используется уставка объема подпитки.

[47] На фиг. 3 изображена работа 300 примера MPC в частном варианте осуществления и сценарии. На фиг. 3 ось x обозначает временные интервалы (k, k+1 и т. д.), тогда как ось y обозначает амплитуды (например, значения уставок и т. д.). Область слева от оси y (k-1, k-2 и т. д.) обозначает прошлые временные интервалы, область справа

от оси  $y$  ( $k+1$ ,  $k+2$  и т. д.) обозначает будущие временные интервалы, и  $k$  обозначает текущий временной интервал. На фиг. 3 показаны прошлые (измеренные) значения 302 характеристики культуры клеток и прошлые контрольные уставки 304, а также будущие значения 306 характеристик культуры клеток, прогнозируемые прогнозирующей моделью (например, прогнозирующей моделью 142 или 206), и будущие контрольные уставки 308, рассчитанные MPC (например, MPC 144 или 208) в течение конечного горизонта 310 управления.

[48] В данном частном примере конечный горизонт 310 управления и, эквивалентно, горизонт прогнозирования прогнозирующей модели (например, прогнозирующей модели 206) охватывает  $n$  будущих временных интервалов, где  $n$  может представлять собой любое подходящее целое число больше единицы. В некоторых вариантах осуществления по причине того, что первые несколько прогнозов должны быть более надежными, MPC (например, MPC 144 и/или 208) характеризуется горизонтом прогнозирования, состоящим только четыре дня или только три дня и т. д. Более короткий горизонт прогнозирования и более короткий конечный горизонт 310 управления могут обеспечивать устойчивость, если система испытывает возмущение, и/или могут оптимизировать систему для получения наилучшего конечного результата. По причине того, что система будет продолжать получать новые результаты измерений культуры клеток, прогнозы для более поздних дней могут со временем улучшаться. Улучшения модели могут осуществляться для достижения горизонтов прогнозирования более четырех дней (например, шесть дней и т. д.), в частности тогда, когда система находится в установившемся состоянии, например в процессе непрерывного производства (СМ).

[49] Со ссылкой на фиг. 2 в некоторых вариантах осуществления результаты 204 измерений культуры клеток включают значения, сгенерированные с использованием обучения «точно в срок» (JITL), как рассмотрено выше со ссылкой на фиг. 1. В некоторых из этих вариантов осуществления компоненты, выдаваемые в результате JITL, могут представлять собой компоненты, вводимые в прогнозирующую модель 206. В альтернативных вариантах осуществления компоненты, выдаваемые в результате JITL, могут представлять собой компоненты, вводимые в модель на основе разложения по динамическим модам (DMD) или разреженной идентификации нелинейной динамики (SINDY). Модель может представлять собой, например, модель на основе ODE. Модель DMD/SINDY может, в свою очередь, предоставлять ее выдаваемые компоненты в MPC 208, который может использовать, например, оптимизатор GEKKO.

[50] На фиг. 4 изображен пример последовательности 400 прогнозирования, выполняемого прогнозирующей моделью 142, представленной на фиг. 1, и/или прогнозирующей моделью 206, представленной на фиг. 2. На фиг. 4 параметр  $k$  обозначает текущий временной интервал. Таким образом, в примере, где каждый временной интервал представляет собой один день,  $k$  представляет собой текущий день,  $k+1$  представляет собой следующий день,  $k-1$  представляет собой предыдущий день и т. д. Последовательность 400 показывает ход прогнозирования прогнозирующей модели

третьего порядка (например, нейронной сети или регрессионной модели третьего порядка) для текущего временного интервала  $k$ . Блоки с пунктирным контуром представляют результаты аналитических измерений (например, временные интервалы, в которые аналитический (аналитические) прибор (приборы) 104 производит (производят) измерения), тогда как блоки со сплошным контуром представляют значения, прогнозируемые прогнозирующей моделью третьего порядка. Как видно в данном примере, результаты аналитических измерений характеристики культуры клеток для текущего ( $k$ ) и двух прошлых ( $k-1$  и  $k-2$ ) временных интервалов представляют собой компоненты, вводимые в прогнозирующую модель (возможно, наряду с результатами измерений других характеристик культуры клеток), что позволяет прогнозирующей модели прогнозировать значение характеристики культуры клеток в следующем временном интервале  $k+1$ . Прогнозирующая модель затем использует прогнозируемое значение для временного интервала  $k+1$  наряду с измеренными значениями для  $k$  и  $k-1$  для прогнозирования значения характеристики культуры клеток в следующем временном интервале  $k+2$ . В данном примере прогнозирующая модель затем использует прогнозируемые значения для временных интервалов  $k+1$  и  $k+2$  наряду с измеренным значением для  $k$  для прогнозирования значения характеристики культуры клеток в следующем временном интервале  $k+3$  и т. д. до горизонта прогнозирования из четырех временных интервалов (до  $k+4$ ).

[51] Как отмечено выше, прогнозирующая модель (например, прогнозирующая модель 142, представленная на фиг. 1, и/или прогнозирующая модель 206, представленная на фиг. 2) может представлять собой нейронную сеть или регрессионную модель более высокого порядка (второго порядка или выше). Упрощенный пример нейронной сети 500 показан на фиг. 5. Нейронные сети являются проверенными средствами аппроксимации функций общего вида. То есть нейронная сеть может аппроксимировать любое нелинейное поведение ввода-вывода путем манипулирования количеством слоев и доступностью обучающих данных и путем использования соответствующего способа обучения. Как видно на фиг. 5, нейронная сеть 500 содержит несколько вводов в слое 502 ввода, внутренние узлы в каждом из нескольких внутренних, или скрытых, слоев с 504-1 по 504-L (где L представляет собой любое подходящее целое число больше нуля), и несколько выводов в слое 506 вывода. В этом примере нейронная сеть 500 представляет собой нейронную сеть  $(m+1)$ -го порядка, работающую с вводимыми компонентами из текущего дня или другого временного интервала ( $x(k)$ ), а также каждого предыдущего временного интервала вплоть до предыдущего  $m$ -го временного интервала  $x(k-m)$  (включительно), где  $m$  представляет собой любое подходящее целое число больше нуля. Несмотря на то, что на фиг. 5 показаны  $n$  выводов в слое 506, в некоторых вариантах осуществления нейронная сеть 500 содержит только прогнозируемое значение в

следующем временном интервале (т. е.  $y(k + 1)$ ). Затем для запуска нескольких итераций нейронной сети 500 можно использовать последовательность прогнозирования, подобную последовательности 400, представленной на фиг. 4, посредством чего получают дополнительные прогнозируемые значения (например,  $y(k + 2)$ ,  $y(k + 3)$  и т. д.) по всей продолжительности необходимого горизонта прогнозирования/конечного горизонта управления.

[52] Основное уравнение нейронной сети 500 можно выразить как:

$$\hat{y}(k) = U\varphi(W(x(k - 1))) \text{ (Уравнение 1)}$$

В уравнении 1  $x(k)$  и  $\hat{y}(k)$  представляют собой соответственно векторы вводимых компонентов сети, применяемые в слое 502, и векторы выдаваемых компонентов сети, получаемые в слое 506, и  $U$  и  $W$  представляют собой весовые матрицы сети, найденные путем оптимизации функции стоимости обучения. Можно предположить, что функция стоимости обучения нейронной сети представляет собой традиционную «сумму квадратичных ошибок» (SSE):

$$J = \frac{1}{2} \sum_{k=1}^N \|y(k) - \hat{y}(k)\|^2 \text{ (Уравнение 2)}$$

В уравнении 2  $y(k)$  представляет собой измеренные выдаваемые компоненты, и  $N$  представляет собой количество обучающих выборок. Для нахождения весовых параметров сети путем оптимизации функции стоимости обучения, такой как функция, представленная в Уравнении 2, были предложены различные подходы к локальной и глобальной оптимизации. В то время как подходы к локальной оптимизации являются относительно быстрыми, они, как правило, страдают от локальных минимумов задачи по оптимизации, что приводит к неудовлетворительной эффективности обобщения. В некоторых вариантах осуществления для оптимизации функции стоимости обучения и нахождения весовых параметров сети используется подход масштабированного сопряженного градиента. «Масштабированный сопряженный градиент» представляет собой быстрый и автоматизированный алгоритм обучения, который, в отличие от многих других алгоритмов обучения, не содержит какие-либо параметры, зависящие от пользователя, и с меньшей вероятностью страдает от локальных минимумов задачи по оптимизации. В некоторых вариантах осуществления нейронная сеть 500 (например, нейронная сеть прямого распространения) обучается для прогнозирования VCD и концентрации глюкозы с использованием архивных измеренных концентраций глюкозы и лактата. В качестве вводимых компонентов для обучения нейронной сети 500 можно также использовать другие результаты измерений «вне линии» и оперативных измерений.

[53] В других вариантах осуществления в качестве прогнозирующей модели 142 и/или 206 использована линейная или нелинейная регрессионная модель второго порядка

или более высокого порядка. Для модели второго порядка текущие результаты измерений характеристики культуры клеток и результаты измерений из более раннего временного интервала (например, предыдущего дня) могут храниться соответственно в векторах  $\mathbf{a}$  и  $\mathbf{b}$ . Эти два вектора наряду с их разными комбинациями с прогнозируемыми значениями (например, как в последовательности 400, представленной на фиг. 4), являются компонентами, вводимыми в регрессионную модель. Векторы  $\mathbf{a}$  и  $\mathbf{b}$  можно комбинировать в форму вектора  $\mathbf{x}(k)$  вводимых компонентов для модели второго порядка.

[54] Для модели третьего порядка структура вводимых компонентов подобна вводимым компонентам модели второго порядка. Однако компоненты, вводимые в модель третьего порядка, дополнительно включают результаты измерений из еще более раннего временного интервала (например, дня до предыдущего дня), как вектор  $\mathbf{c}$ . Аналогично, это увеличивает размерность вводимых компонентов регрессионной модели. Векторы  $\mathbf{a}$ ,  $\mathbf{b}$  и  $\mathbf{c}$  комбинируют в форму вектора  $\mathbf{x}(k)$  вводимых компонентов для модели третьего порядка.

[55] Комбинирование моделей второго и третьего порядка позволяет прогнозировать метаболиты, начиная со второго дня эксперимента (т. е. использовать данные Дня 0 и Дня 1 посредством модели второго порядка), с повышением точности прогноза за счет использования модели третьего порядка, начиная со Дня 3 эксперимента.

[56] Если допустить, что  $\mathbf{x}(k)$  представляет собой вектор вводимых компонентов для регрессионной модели, и  $\hat{\mathbf{y}}(k+1)$  представляет собой выдаваемые компоненты (прогноз) регрессионной модели, основное уравнение регрессионной модели можно описать как:

$$\hat{\mathbf{y}}(k+1) = \alpha \mathbf{x}(k) + e(k) \text{ (Уравнение 3)}$$

В уравнении 3  $\alpha$  представляет собой вектор коэффициентов модели, и  $e(k)$  представляет ошибку идентификации и помехи при измерениях. Функция стоимости

$$J = \frac{1}{2} \sum_{k=1}^N \|\mathbf{y}(k) - \hat{\mathbf{y}}(k)\|^2 + \|\alpha\|_2^2 \text{ (Уравнение 4)}$$

Добавление  $\|\alpha\|_2^2$  (второй нормы  $\alpha$  в квадрате) в функцию стоимости в уравнении 4 уменьшает влияние ненужных регрессоров на компоненты, выдаваемые моделью, и оказывает воздействие на достижение усечения модели (т. е. уменьшения количества компонентов, вводимых в модель) в будущем.

[57] Обучение прогнозирующей модели, будь то нейронная сеть или регрессионная модель, может быть трудной задачей, учитывая ограниченную доступность детальных реальных архивных данных из процессов культивирования клеток. Например, концентрации метаболитов могли не измеряться и не регистрироваться каждый день. Поэтому в некоторых вариантах осуществления для обеспечения большего количества точек данных (т. е. «недостающих» значений) используют линейную интерполяцию для большего набора обучающих данных, хотя такая интерполяция имеет тенденцию быть

неточной. В некоторых вариантах осуществления прогнозирующая модель (например, прогнозирующая модель 114 и/или 206) непрерывно адаптируется за счет использования измеренных и прогнозируемых значений характеристики культуры клеток в качестве меток и вводимых компонентов соответственно в последующем обучении прогнозирующей модели (т. е. после начального обучения прогнозирующей модели и ее введения в использование). Таким образом точность прогнозирования может продолжать увеличиваться со временем.

[58] На фиг. 6-11 изображены показатели эффективности различных вариантов осуществления методов интеллектуального управления, рассмотренных в данном документе. В частности, на фиг. 6А-6Е представлены примеры графиков со сравнением измеренных и прогнозируемых значений разных характеристик культуры клеток при использовании нейронной сети и усеченного набора результатов измерений метаболитов, на фиг. 7А-7Е представлены примеры графиков со сравнением измеренных и прогнозируемых значений разных характеристик культуры клеток при использовании регрессионной модели второго порядка и усеченного набора результатов измерений метаболитов, и на фиг. 8А-8Е представлены примеры графиков со сравнением измеренных и прогнозируемых значений разных характеристик культуры клеток при использовании регрессионной модели третьего порядка и усеченного набора результатов измерений метаболитов. На фиг. 9А-9J представлены примеры графиков со сравнением измеренных и прогнозируемых значений разных характеристик культуры клеток при использовании нейронной сети и полного набора результатов измерений метаболитов, на фиг. 10А-10J представлены примеры графиков со сравнением измеренных и прогнозируемых значений разных характеристик культуры клеток при использовании регрессионной модели второго порядка и полного набора результатов измерений метаболитов, и на фиг. 11А-11J представлены примеры графиков со сравнением измеренных и прогнозируемых значений разных характеристик культуры клеток при использовании регрессионной модели третьего порядка и полного набора результатов измерений метаболитов.

[59] На каждом из графиков, представленных на фиг. 6-11, результаты аналитических измерений реальных значений для указанной характеристики культуры клеток (например, VCD на фиг. 6А, TCD на фиг. 6В и т. д.) изображены в виде знаков «плюс» («+»), а линии, отмеченные как «Прогноз на День z» (например, День 3, День 5 и т. д.), соответствуют случаю, в котором результаты аналитических измерений до Дня z-1 использовались (например, прогнозирующей моделью 114 или 206) для прогнозирования значения указанной характеристики культуры клеток со Дня z по последний день опыта (в этих примерах День 11). Каждый график на фиг. 6А-6Е и каждый график на фиг. 7А-7Е и т. д. соответствует прогнозам, выполненным разными моделями (например, таким образом, что первая нейронная сеть прогнозирует VCD на фиг. 6А, вторая нейронная сеть прогнозирует TCD на фиг. 6В, и т. д.). Для различных моделей, представленных на фиг. 6-11, прогнозы значений, соответствующих последующим временным интервалам

(например,  $k+2$  и т. д.), выполнены путем комбинирования измеренных и прогнозируемых значений аналогично последовательности 400, изображенной на фиг. 4.

[60] Как видно на фиг. 7А-7Е и 8А-8Е (а также на фиг. 10А-10J и 11А-11J), регрессионная модель второго порядка позволяет выполнять прогнозирование, начиная в День 2, тогда как регрессионная модель третьего порядка позволяет выполнять прогнозирование, начиная в День 3. На фиг. 6А-6Е (а также на фиг. 9А-9J) отражена нейронная сеть третьего порядка, и, таким образом, прогнозирование выполняется, начиная в День 3. Для регрессионных моделей второго порядка и третьего порядка в качестве алгоритма обучения использовали неограниченную многопеременную минимизацию. Во всех случаях для обучения и испытания модели использовали биореактор объемом в один литр, и размер набора обучающих данных увеличивали с использованием линейной интерполяции. Измеренные переменные были объединены в вектор, чтобы представлять компоненты, вводимые в модель.

[61] Для фиг. 9-11 основные структуры моделей не изменялись по сравнению с соответственно фиг. 6-8. Однако для моделирования (в частности, объема подпитки, VCD, TCD, жизнеспособности, концентрации лактата, концентрации глюкозы, концентрации натрия, концентрации калия, концентрации аммония и концентрации глутамина) измеряли или иначе получали большее количество параметров (характеристик культуры клеток). Хотя большинство из этих параметров являются измеренными значениями, объем подпитки может быть получен на основе контрольной уставки, или его можно измерить. Использование результатов измерения из этого большего набора метаболитов увеличивает размерность вводимых компонентов и модели, что, в свою очередь, требует большего количества обучающих данных для эффективного обучения каждой модели. Однако полученные в результате обученные модели могут более точно прогнозировать уровни метаболитов и/или значения других характеристик культуры клеток, как видно на фиг. 6-11.

[62] Как видно на фиг. 7А-7Е и 10А-10J, для регрессионной модели второго порядка качество/точность прогнозирования в целом увеличивается со временем. Однако точность прогнозирования для модели второго порядка в целом ниже точности прогнозирования нейронной сети (фиг. 6А-6Е, 9А-9J) или регрессионной модели третьего порядка (фиг. 8А-8Е, 11А-11J).

[63] На фиг. 12 представлена схема последовательности операций примера способа 1200 управления процессом культивирования клеток. Способ 1200 может быть реализован при помощи такой системы, как система 100, представленная на фиг. 1 (например, при помощи обрабатывающего аппаратного обеспечения 120, исполняющего команды приложения 130 для управления ССР, и/или при помощи сервера 108 модели). Способ 1200 можно повторять (например, в реальном времени) для одного или нескольких временных интервалов (например, каждого из нескольких дней) во время процесса культивирования клеток.

[64] В блоке 1202 в результате ручной выборки или имитации получают текущие

значения одной или нескольких характеристик культуры клеток, связанных с культурой клеток (например, в биореакторе, таком как биореактор 102). Блок 1202 может включать, например, прием текущих значений из другого устройства или системы (например, из аналитического (аналитических) прибора (приборов) 104), непосредственное измерение некоторых или всех значений (например, при помощи аналитического (аналитических) прибора (приборов) 104) и/или выведение или прогнозирование некоторых или всех значений (например, на основании результатов измерений/векторов сканирования методом рамановской спектроскопии и с использованием ИТЛ). Характеристики культуры клеток, для которых получают значения, могут включать один или несколько уровней (например, концентраций) метаболитов, VCD, TCD, жизнеспособность, объем добавляемой подпитки и/или одну или несколько других характеристик культуры клеток.

[65] В блоке 1204 прогнозируются одно или несколько будущих значений конкретной характеристики культуры клеток, связанной с культурой клеток. Блок 1204 включает применение текущих значений и по меньшей мере одного более раннего значения по меньшей мере одной характеристики культуры клеток в качестве компонентов, вводимых в прогнозирующую модель, основанную на данных (например, прогнозирующую модель 114 или 206). Более раннее (ранние) значение (значения) характеристики (характеристик) культуры клеток может (могут) представлять собой, например, значение (значения), полученное (полученные) в результате ручной выборки или имитации, которая произошла в более ранний временной интервал. В некоторых вариантах осуществления, например, как текущее (текущие) значение (значения) из блока 1202, так и более раннее (ранние) значение (значения) из блока 1204 получают/были получены с использованием ИТЛ для выведения или прогнозирования этих значений на основании результатов измерений/векторов сканирования методом рамановской спектроскопии. Прогнозирующая модель может представлять собой нейронную сеть (например, нейронную сеть прямого распространения) или регрессионную модель по меньшей мере второго порядка (например, третьего порядка). Конкретная характеристика культуры клеток, для которой прогнозируется (прогнозируются) будущее (будущие) значение (значения), может включать уровень (например, концентрацию) метаболитов, VCD, TCD, жизнеспособность или другую характеристику культуры клеток. Количество прогнозируемых будущих значений обычно зависит от желаемого конечного горизонта управления, который может иметь любую подходящую продолжительность (например, четыре дня, или любую подходящую продолжительность от двух до шести дней и т. д.).

[66] В блоке 1206 осуществляется управление одним или несколькими физическими компонентами, вводимыми в процесс культивирования клеток. Блок 1206 включает применение в качестве компонентов, вводимых в MPC, будущего (будущих) значения (значений) (прогнозируемого (прогнозируемых) в блоке 1204). MPC может выдавать значение, которое используется (например, приложением 130 для управления ССР) с целью генерирования управляющего сигнала (например, команды, указывающей уставку) для отправки в устройство ввода (управляющий элемент), такое как одно из

устройств 112 ввода.

[67] В некоторых вариантах осуществления способ 1200 включает один или несколько дополнительных блоков, не показанных на фиг. 12. Например, блоки, подобные блокам 1204 и 1206 (и, возможно, также блоку 1202), могут выполняться параллельно одной или нескольким другим прогнозирующим моделям, которые прогнозируют будущие значения других характеристик культуры клеток.

[68] Ниже будут рассмотрены дополнительные соображения в отношении настоящего изобретения.

[69] Некоторые из фигур, описанных в настоящем документе, иллюстрируют примерные блок-схемы, на которых представлены один или несколько функциональных компонентов. Следует понимать, что такие структурные схемы представлены для иллюстративных целей, и описанные и показанные устройства могут иметь дополнительные или альтернативные компоненты, или меньшее количество компонентов, чем проиллюстрировано. Дополнительно в различных вариантах осуществления компоненты (а также функциональные возможности, предоставленные соответствующими компонентами) могут быть связаны с любым подходящим компонентом или иным образом интегрированы в виде его части.

[70] Варианты осуществления настоящего изобретения относятся к энергозависимому машиночитаемому носителю данных, который содержит программный код для выполнения различных действий, осуществляемых компьютером. Термин «машиночитаемый носитель данных» используют в данном документе для описания любого носителя, способного хранить или кодировать последовательность команд или компьютерных кодов для выполнения операций, методологий и методов, описанных в данном документе. Носители и компьютерный код могут быть специально созданы и выполнены для достижения целей вариантов осуществления настоящего изобретения, или они могут быть широко известны и доступны для специалистов в области программного обеспечения. Примеры машиночитаемых носителей данных включают, но без ограничения: магнитные носители, такие как жесткие диски, гибкие диски и магнитные пленки; оптические носители, такие как CD-ROM и голографические устройства; магнитно-оптические носители, такие как оптические диски; и аппаратные устройства, которые специально выполнены с возможностью хранения и исполнения программного кода, такие как ASIC, программируемые логические устройства («PLD») и устройства ROM и RAM.

[71] Примеры компьютерного кода включают машинный код, например написанный компилятором, и файлы, содержащие код более высокого уровня, которые исполняются компьютером за счет использования интерпретатора или компилятора. Например, вариант осуществления настоящего изобретения может быть реализован за счет использования Java, C++ или других объектно-ориентированных языков программирования и средств разработки. Дополнительные примеры компьютерного кода включают зашифрованный код и сжатый код. Более того, вариант осуществления

настоящего изобретения может быть загружен в виде компьютерного программного продукта, который может быть передан с удаленного компьютера (например, серверного компьютера) на запрашивающий компьютер (например, на компьютер клиента или другой серверный компьютер) посредством канала передачи данных. Другой вариант осуществления настоящего изобретения может быть реализован в виде кабельной схемы вместо программных команд, исполняемых компьютерами, или в сочетании с ними.

[72] В контексте данного документа формы существительного единственного числа также могут обозначать формы множественного числа, если в контексте явно не обозначено иное.

[73] В контексте данного документа термины «приблизительно», «по существу», «существенный» и «примерно» используются для описания и учета небольших отклонений. Когда термины используются в сочетании с определенным случаем или обстоятельством, они могут относиться к ситуациям, при которых случай и обстоятельство происходят определенным образом, а также ситуациям, при которых случай и обстоятельство происходят с некоторой точностью. Например, когда термины используются в сочетании с числовым значением, они могут обозначать диапазон отклонения, которое меньше или равно  $\pm 10\%$  от этого числового значения, например меньше или равно  $\pm 5\%$ , меньше или равно  $\pm 4\%$ , меньше или равно  $\pm 3\%$ , меньше или равно  $\pm 2\%$ , меньше или равно  $\pm 1\%$ , меньше или равно  $\pm 0,5\%$ , меньше или равно  $\pm 0,1\%$  или меньше или равно  $\pm 0,05\%$ . Например, подразумевается, что два числовых значения могут быть «по существу» одинаковыми, если разница между значениями меньше или равна  $\pm 10\%$  от среднего из значений, например меньше или равна  $\pm 5\%$ , меньше или равна  $\pm 4\%$ , меньше или равна  $\pm 3\%$ , меньше или равна  $\pm 2\%$ , меньше или равна  $\pm 1\%$ , меньше или равна  $\pm 0,5\%$ , меньше или равна  $\pm 0,1\%$  или меньше или равна  $\pm 0,05\%$ .

[74] Дополнительно количества, соотношения и иные числовые значения иногда представлены в данном документе в формате диапазона. Следует понимать, что такой формат диапазона используется для удобства и краткости, и его следует считать гибким для включения численных значений, явно указанных в качестве границ диапазона, а также для включения всех отдельных численных значений или поддиапазонов, содержащихся в рамках этого диапазона, как если каждое численное значение и поддиапазон указаны явным образом.

[75] Хотя настоящее изобретение было описано и проиллюстрировано со ссылками на его конкретные варианты осуществления, эти описания и иллюстрации не ограничивают настоящее изобретение. Специалистам в данной области техники следует понимать, что могут быть внесены различные изменения, и могут быть использованы эквиваленты без отступления от сущности и объема настоящего изобретения, которые определены прилагаемой формулой изобретения. Иллюстрации не обязательно выполнены в масштабе. В настоящем изобретении между схематичными представлениями и фактическим устройством могут существовать различия вследствие производственных процессов, допусков и/или по другим причинам. Могут существовать другие варианты

осуществления настоящего изобретения, которые не были конкретно проиллюстрированы. Описание (но не формулу изобретения) и графические материалы следует считать иллюстративными, а не ограничительными. Изменения могут быть внесены для приспособления определенной ситуации, материала, состава вещества, метода или процесса к цели, сущности и объему настоящего изобретения. Все подобные изменения находятся в пределах объема согласно приложенной формуле изобретения. Хотя методы, раскрытые в данном документе, описаны со ссылкой на конкретные операции, выполняемые в конкретном порядке, следует понимать, что эти операции могут быть объединены, подразделены или переупорядочены для создания эквивалентного метода без отступления от идей настоящего изобретения. Соответственно, если конкретно не указано иное, порядок и группирование действий не ограничивают настоящее изобретение.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ управления процессом культивирования клеток, причем способ включает для одного или нескольких временных интервалов во время процесса культивирования клеток:

получение текущих значений одной или нескольких характеристик культуры клеток, связанных с культурой клеток, в результате ручной выборки или имитации;

прогнозирование при помощи обрабатывающего аппаратного обеспечения одного или нескольких будущих значений конкретной характеристики культуры клеток, связанной с культурой клеток, по меньшей мере путем применения (i) текущих значений одной или нескольких характеристик культуры клеток, и (ii) более раннего значения по меньшей мере одной из одной или нескольких характеристик культуры клеток, полученного в результате ручной выборки или имитации в более ранний временной интервал, в качестве компонентов, вводимых в прогнозирующую модель, основанную на данных; и

управление при помощи обрабатывающего аппаратного обеспечения, применяющего одно или несколько будущих значений в качестве компонентов, вводимых в контроллер с прогнозированием на основе модели, одним или несколькими физическими компонентами, вводимыми в процесс культивирования клеток.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что прогнозирующая модель, основанная на данных, представляет собой регрессионную модель.

3. Способ по п. 2, отличающийся тем, что:

получение текущих значений включает получение текущих значений во время текущего временного интервала; и

прогнозирование одного или нескольких будущих значений конкретной характеристики культуры клеток включает для первой характеристики культуры клеток из одной или нескольких характеристик культуры клеток применение (i) текущего значения первой характеристики культуры клеток, (ii) значения первой характеристики культуры клеток, которое было получено во время первого предыдущего временного интервала, который произошел до текущего временного интервала, и (iii) значения первой характеристики культуры клеток, которое было получено во время второго предыдущего временного интервала, который произошел до первого предыдущего временного интервала, в качестве компонентов, вводимых в прогнозирующую модель, основанную на данных.

4. Способ по п. 3, отличающийся тем, что дополнительно включает для одного или нескольких дополнительных временных интервалов, которые произошли до одного или нескольких временных интервалов:

получение дополнительных текущих значений одной или нескольких характеристик культуры клеток во время текущего временного интервала;

прогнозирование при помощи обрабатывающего аппаратного обеспечения дополнительных одного или нескольких будущих значений конкретной характеристики

культуры клеток по меньшей мере путем применения (i) дополнительных текущих значений одной или нескольких характеристик культуры клеток, (ii) дополнительного значения первой характеристики культуры клеток, которое было получено, в качестве компонентов, вводимых в отличающуюся регрессионную модель; и

управление при помощи обрабатывающего аппаратного обеспечения, применяющего дополнительно одно или несколько будущих значений в качестве компонентов, вводимых в контроллер с прогнозированием на основе модели.

5. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что прогнозирующая модель, основанная на данных, представляет собой нейронную сеть.

6. Способ по п. 5, отличающийся тем, что нейронная сеть представляет собой нейронную сеть прямого распространения.

7. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что получение текущих значений одной или нескольких характеристик культуры клеток, связанных с культурой клеток, включает:

получение одного или нескольких результатов измерения культуры клеток методом рамановской спектроскопии; и

определение текущего значения по меньшей мере одной из одной или нескольких характеристик культуры клеток на основании одного или нескольких результатов измерения методом рамановской спектроскопии.

8. Способ по любому из пп. 1-7, отличающийся тем, что:

одна или несколько характеристик культуры клеток включают одно или несколько из (i) одного или нескольких уровней метаболитов, (ii) плотности жизнеспособных клеток, (iii) общей плотности клеток, (iv) жизнеспособности или (v) объема добавляемой подпитки; и

конкретная характеристика культуры клеток представляет собой одно из (i) уровня метаболитов, (ii) плотности жизнеспособных клеток, (iii) общей плотности клеток или (iv) жизнеспособности.

9. Способ по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что прогнозирование одного или нескольких будущих значений конкретной характеристики культуры клеток включает прогнозирование будущего значения для каждого из по меньшей мере двух разных дней.

10. Способ по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что управление одним или несколькими физическими компонентами, вводимыми в процесс культивирования клеток, включает управление количеством глюкозы, вводимой в культуру клеток.

11. Один или несколько энергонезависимых машиночитаемых носителей данных, на которых хранятся команды, которые при исполнении обрабатывающим аппаратным обеспечением вычислительной системы для одного или нескольких временных интервалов во время процесса культивирования клеток заставляют вычислительную систему:

получать текущие значения одной или нескольких характеристик культуры клеток, связанных с культурой клеток, в результате ручной выборки или имитации;

прогнозировать одно или несколько будущих значений конкретной характеристики культуры клеток, связанной с культурой клеток, по меньшей мере путем применения (i) текущих значений одной или нескольких характеристик культуры клеток и (ii) более раннего значения по меньшей мере одной из одной или нескольких характеристик культуры клеток, полученного в результате ручной выборки или имитации в более ранний временной интервал, в качестве компонентов, вводимых в прогнозирующую модель, основанную на данных; и

управлять путем применения одного или нескольких будущих значений в качестве компонентов, вводимых в контроллер с прогнозированием на основе модели, одним или несколькими физическими компонентами, вводимыми в процесс культивирования клеток.

12. Один или несколько энергонезависимых машиночитаемых носителей данных по п. 11, отличающиеся тем, что прогнозирующая модель, основанная на данных, представляет собой регрессионную модель.

13. Один или несколько энергонезависимых машиночитаемых носителей данных по п. 12, отличающиеся тем, что:

получение текущих значений включает получение текущих значений во время текущего временного интервала; и

прогнозирование одного или нескольких будущих значений конкретной характеристики культуры клеток включает для первой характеристики культуры клеток из одной или нескольких характеристик культуры клеток применение (i) текущего значения первой характеристики культуры клеток, (ii) значения первой характеристики культуры клеток, которое было получено во время первого предыдущего временного интервала, который произошел до текущего временного интервала, и (iii) значения первой характеристики культуры клеток, которое было получено во время второго предыдущего временного интервала, который произошел до первого предыдущего временного интервала, в качестве компонентов, вводимых в прогнозирующую модель, основанную на данных.

14. Один или несколько энергонезависимых машиночитаемых носителей данных по п. 13, отличающиеся тем, что прогнозирующая модель, основанная на данных, представляет собой нейронную сеть.

15. Один или несколько энергонезависимых машиночитаемых носителей данных по любому из пп. 11-14, отличающиеся тем, что:

одна или несколько характеристик культуры клеток включают одно или несколько из (i) одного или нескольких уровней метаболитов, (ii) плотности жизнеспособных клеток, (iii) общей плотности клеток, (iv) жизнеспособности или (v) объема добавляемой подпитки; и

конкретная характеристика культуры клеток представляет собой одно из (i) уровня метаболитов, (ii) плотности жизнеспособных клеток, (iii) общей плотности клеток или (iv) жизнеспособности.

16. Один или несколько энергонезависимых машиночитаемых носителей данных

по любому из пп. 11-15, отличающиеся тем, что управление одним или несколькими физическими компонентами, вводимыми в процесс культивирования клеток, включает управление количеством глюкозы, вводимой в культуру клеток.

17. Система, содержащая:

биореактор, выполненный с возможностью размещения культуры клеток во время процесса культивирования клеток;

одно или несколько электронно-управляемых устройств ввода, выполненных с возможностью обеспечения ввода физических компонентов, вводимых в процесс культивирования клеток;

один или несколько аналитических приборов, выполненных с возможностью измерения одной или нескольких характеристик культуры клеток, связанных с культурой клеток; и

вычислительную систему, выполненную с возможностью, для одного или нескольких временных интервалов во время процесса культивирования клеток,

прогнозирования одного или нескольких будущих значений конкретной характеристики культуры клеток, связанной с культурой клеток, по меньшей мере путем применения (i) текущих значений одной или нескольких характеристик культуры клеток, полученных в результате ручной выборки или имитации, и (ii) более раннего значения по меньшей мере одной из одной или нескольких характеристик культуры клеток, полученного в результате ручной выборки или имитации в более ранний временной интервал, в качестве компонентов, вводимых в прогнозирующую модель, основанную на данных, и

управления одним или несколькими физическими компонентами, вводимыми в процесс культивирования клеток, по меньшей мере путем применения одного или нескольких будущих значений в качестве компонентов, вводимых в контроллер с прогнозированием на основе модели, с целью генерирования одной или нескольких контрольных уставок для одного или нескольких электронно-управляемых устройств ввода.

18. Система по п. 17, отличающаяся тем, что прогнозирующая модель, основанная на данных, представляет собой регрессионную модель.

19. Система по п. 18, отличающаяся тем, что:

получение текущих значений включает получение текущих значений во время текущего временного интервала; и

прогнозирование одного или нескольких будущих значений конкретной характеристики культуры клеток включает для первой характеристики культуры клеток из одной или нескольких характеристик культуры клеток применение (i) текущего значения первой характеристики культуры клеток, (ii) значения первой характеристики культуры клеток, которое было получено во время первого предыдущего временного интервала, который произошел до текущего временного интервала, и (iii) значения первой характеристики культуры клеток, которое было получено во время второго предыдущего

временного интервала, который произошел до первого предыдущего временного интервала, в качестве компонентов, вводимых в прогнозирующую модель, основанную на данных.

20. Система по п. 19, отличающаяся тем, что прогнозирующая модель, основанная на данных, представляет собой нейронную сеть.

21. Система по любому из пп. 17-20, отличающаяся тем, что:

одна или несколько характеристик культуры клеток включают одно или несколько из (i) одного или нескольких уровней метаболитов, (ii) плотности жизнеспособных клеток, (iii) общей плотности клеток, (iv) жизнеспособности или (v) объема добавляемой подпитки; и

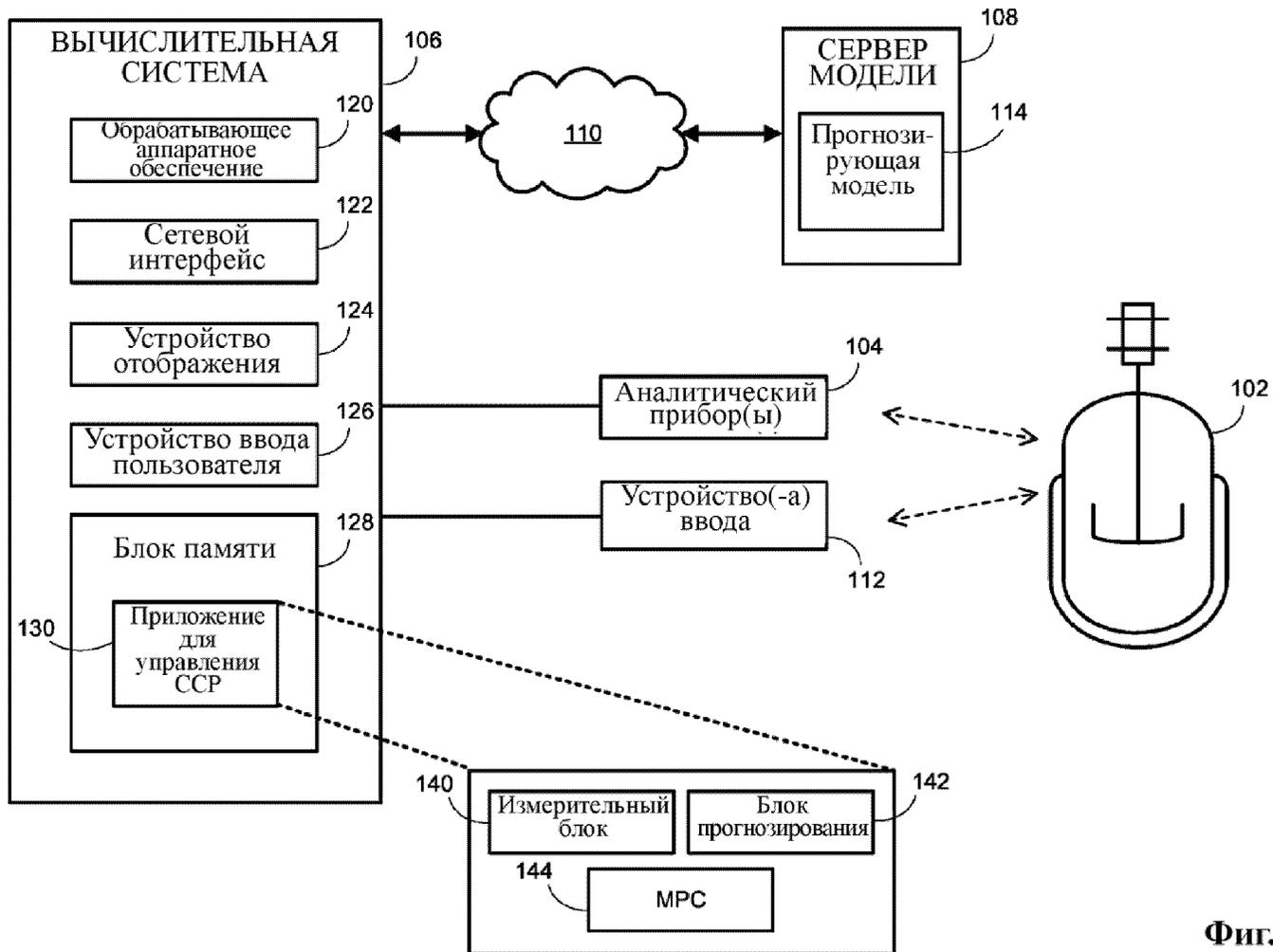
конкретная характеристика культуры клеток представляет собой одно из (i) уровня метаболитов, (ii) плотности жизнеспособных клеток, (iii) общей плотности клеток или (iv) жизнеспособности.

22. Система по любому из пп. 17-21, отличающаяся тем, что:

одно или несколько электронно-управляемых устройств ввода включают насос для глюкозы; и

управление одним или несколькими физическими компонентами, вводимыми в процесс культивирования клеток, включает управление количеством глюкозы, вводимой в культуру клеток при помощи насоса для глюкозы.

По доверенности

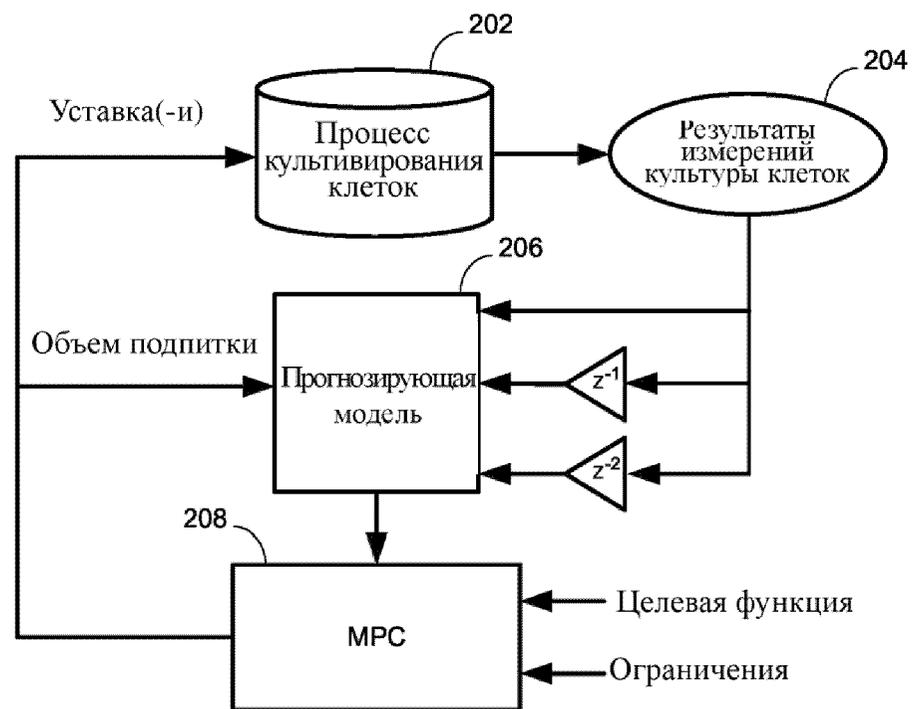


100

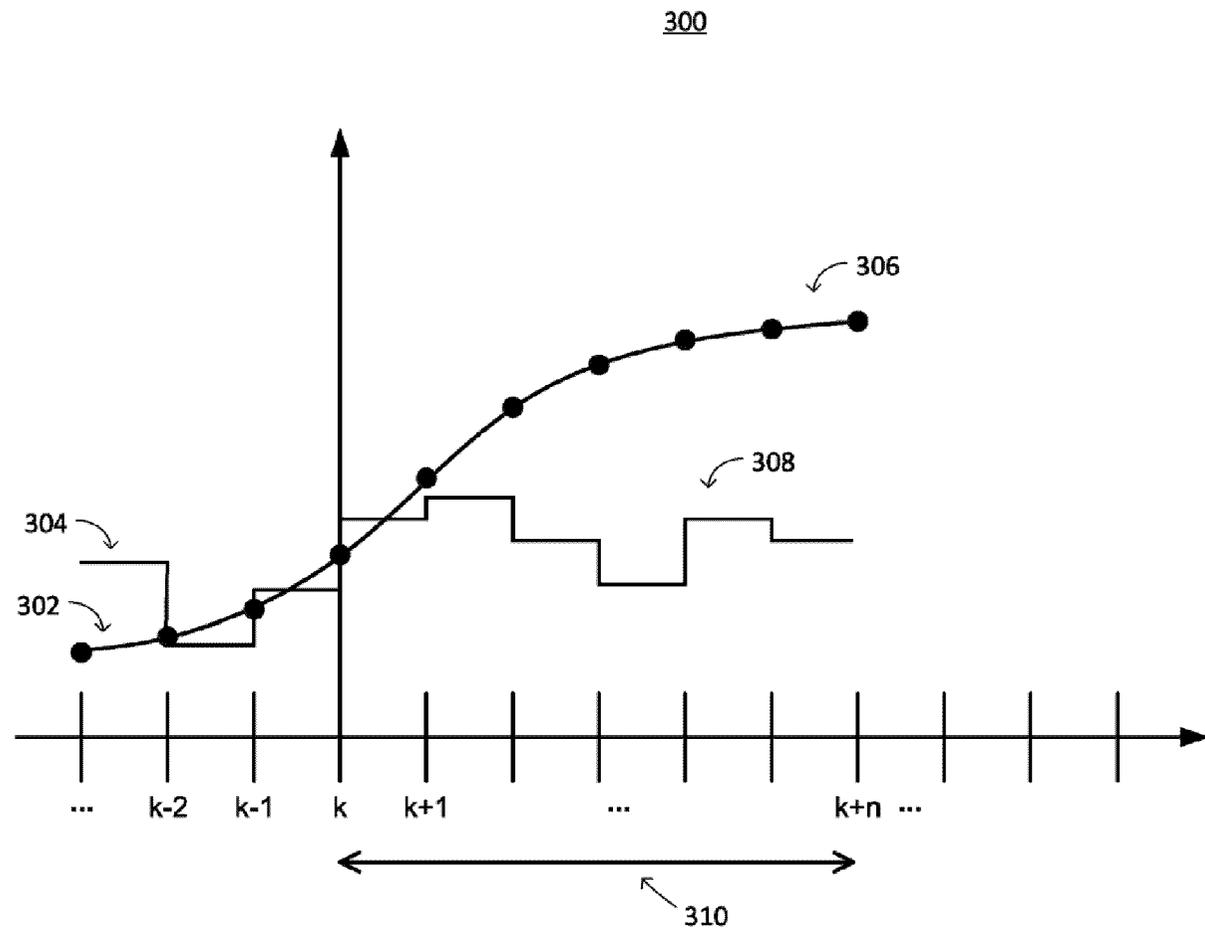
1/30

Фиг. 1

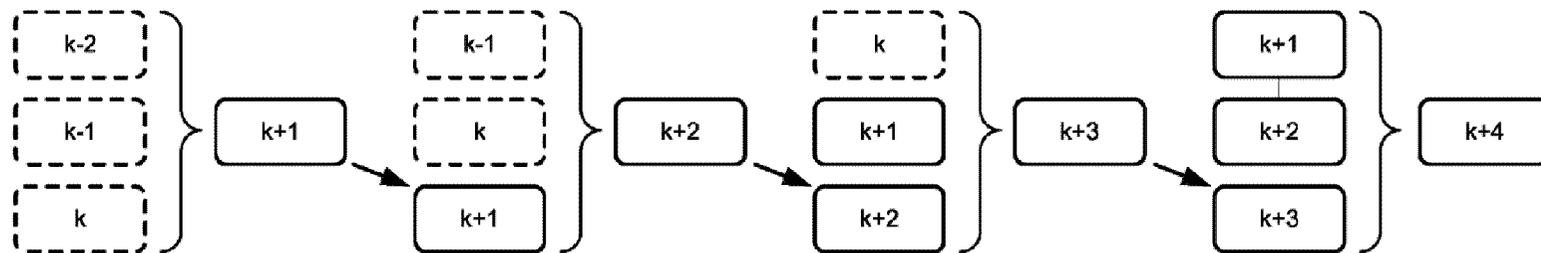
200



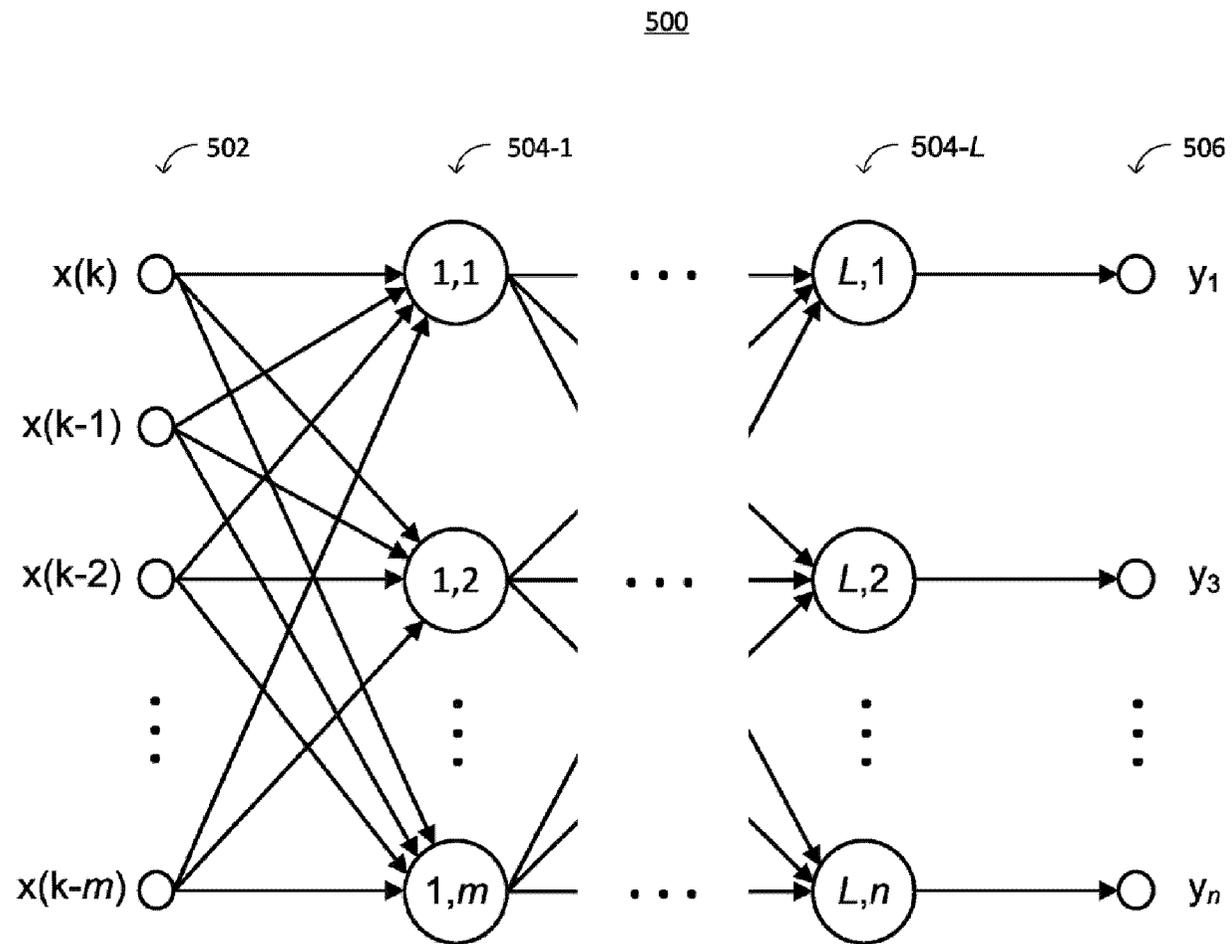
Фиг. 2



Фиг. 3

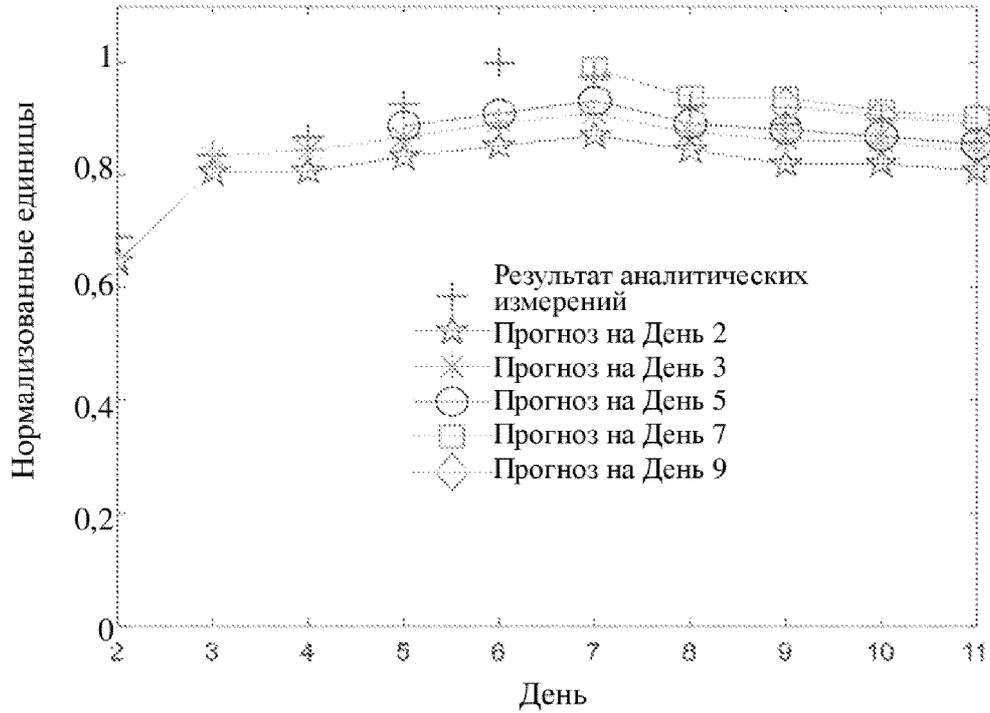


Фиг. 4



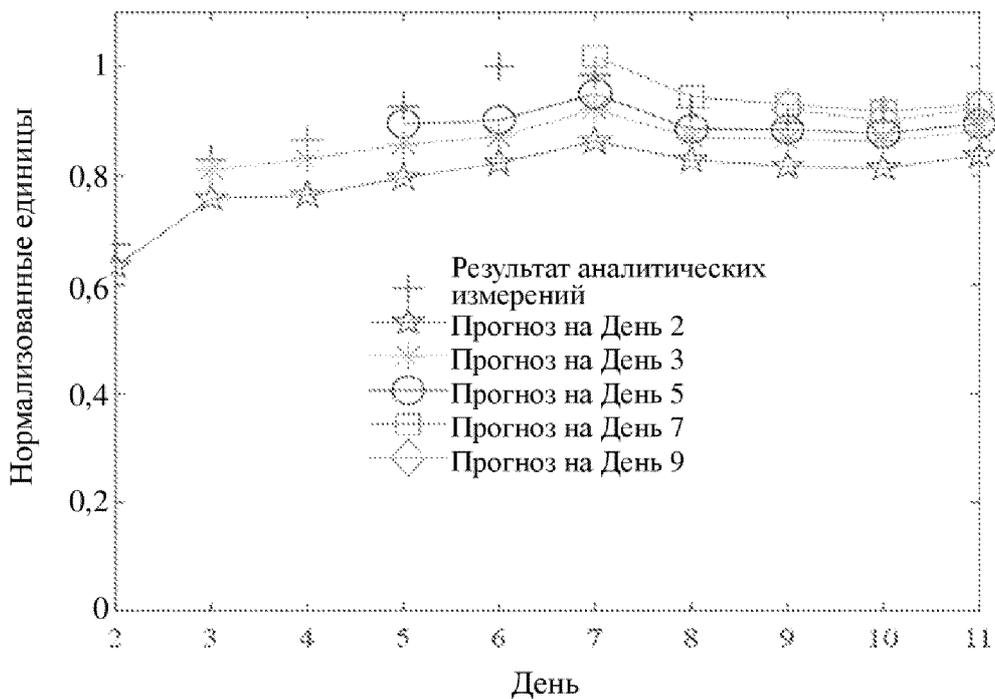
Фиг. 5

## Прогнозирование VCD

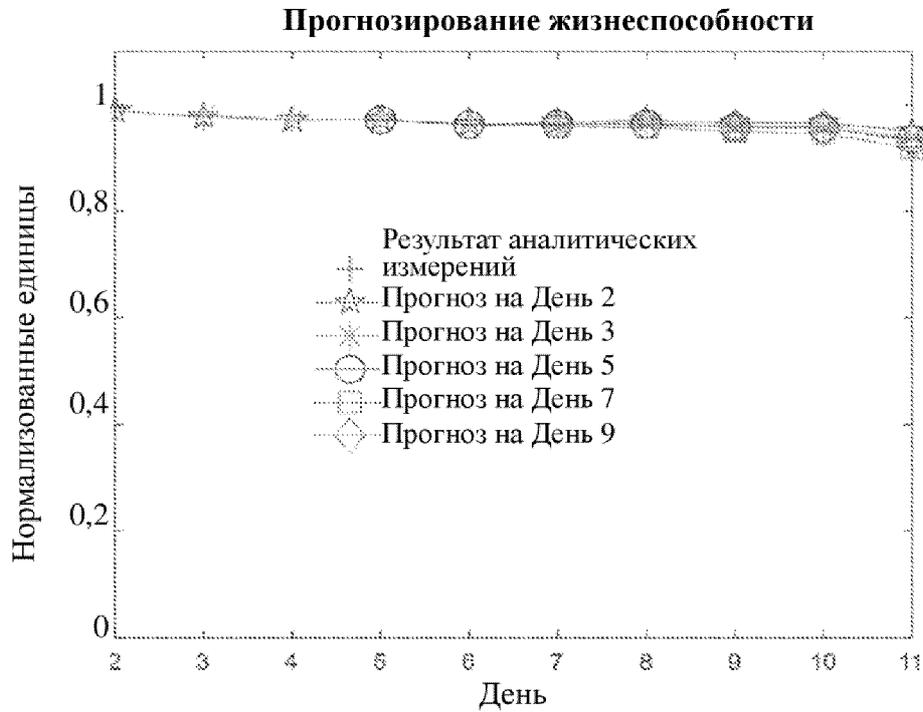


Фиг. 6А

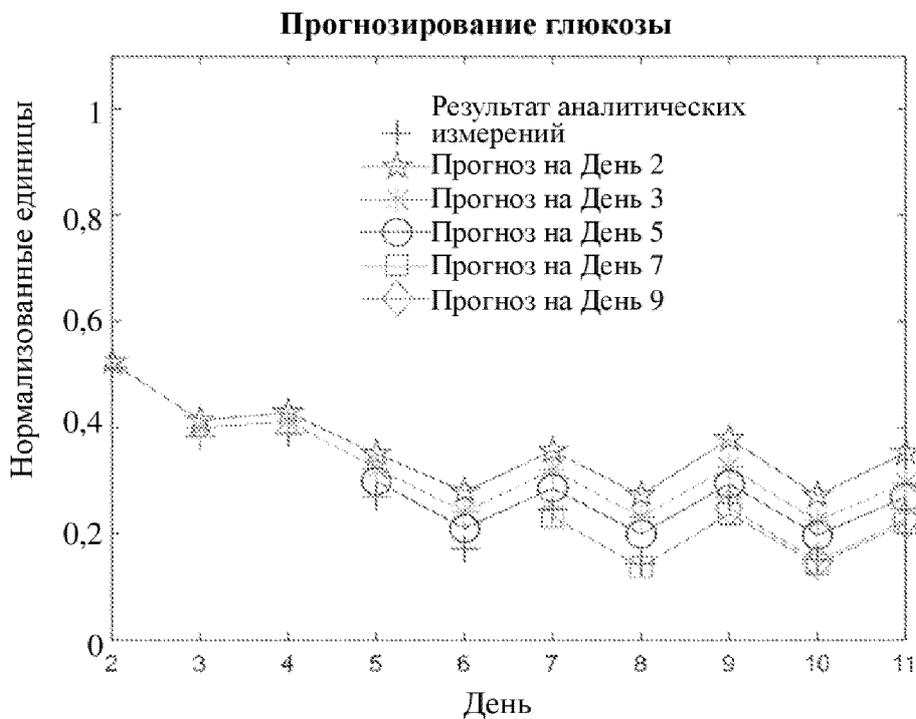
## Прогнозирование TCD



Фиг. 6В

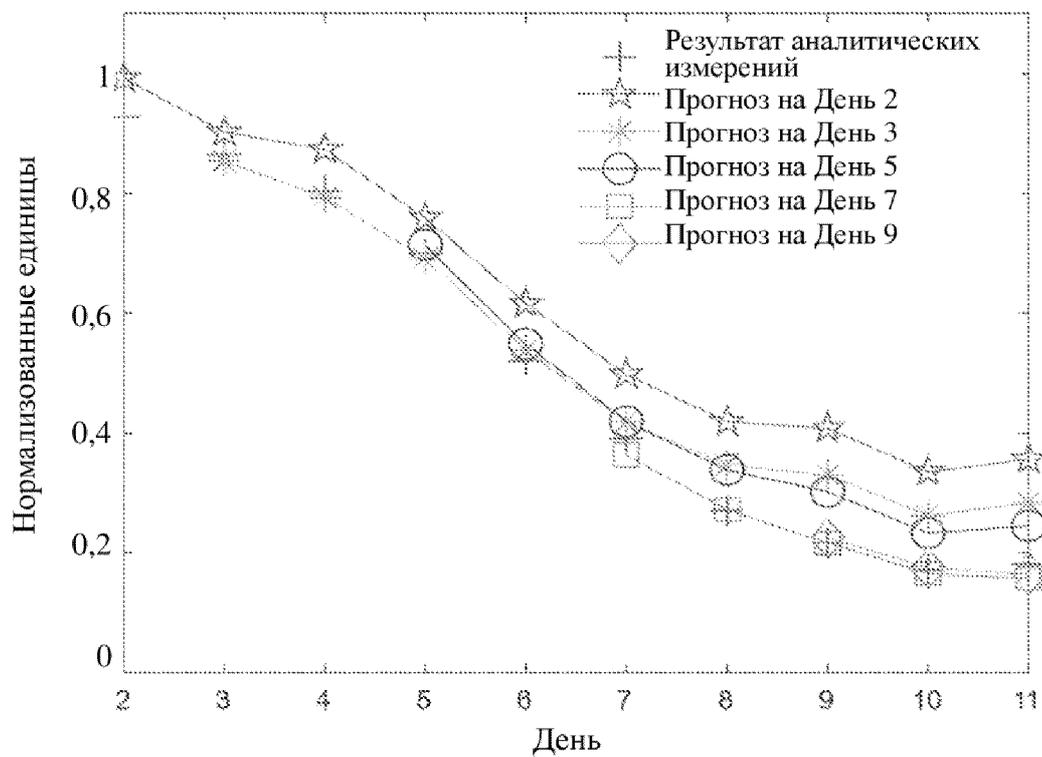


Фиг. 6С



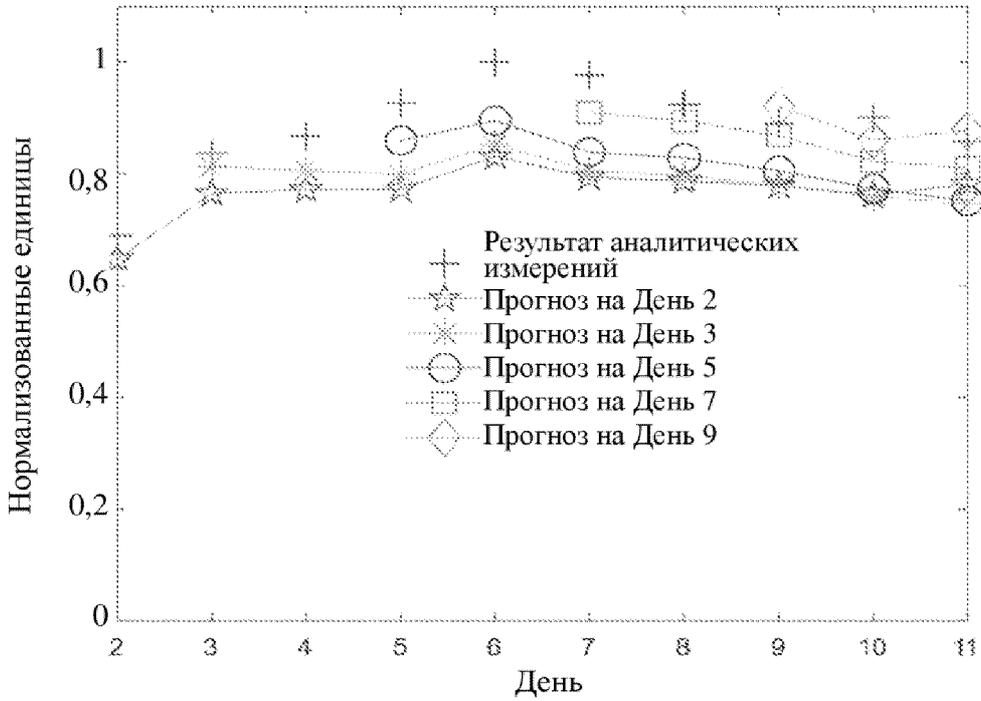
Фиг. 6D

## Прогнозирование лактата



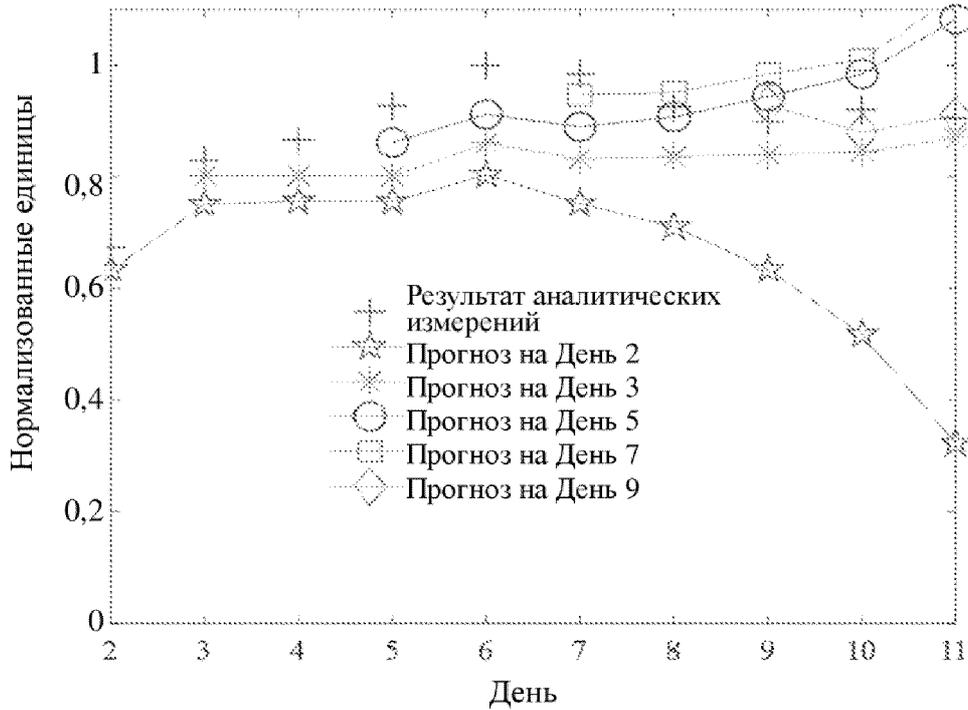
Фиг. 6Е

**Прогнозирование VCD**

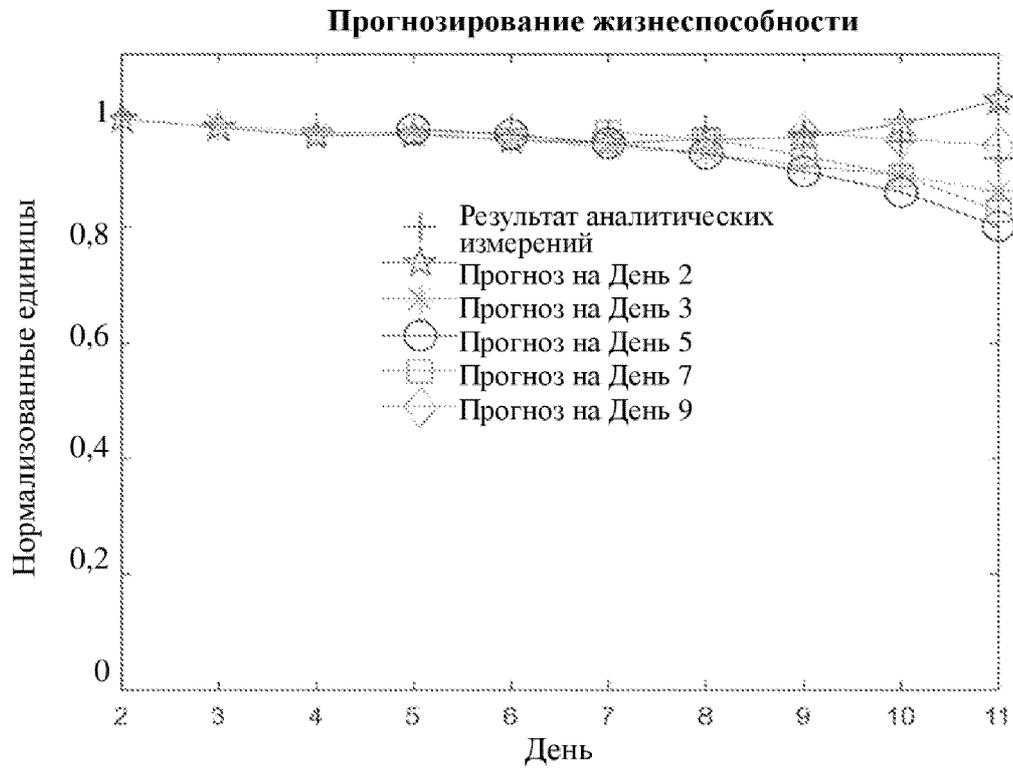


**Фиг. 7А**

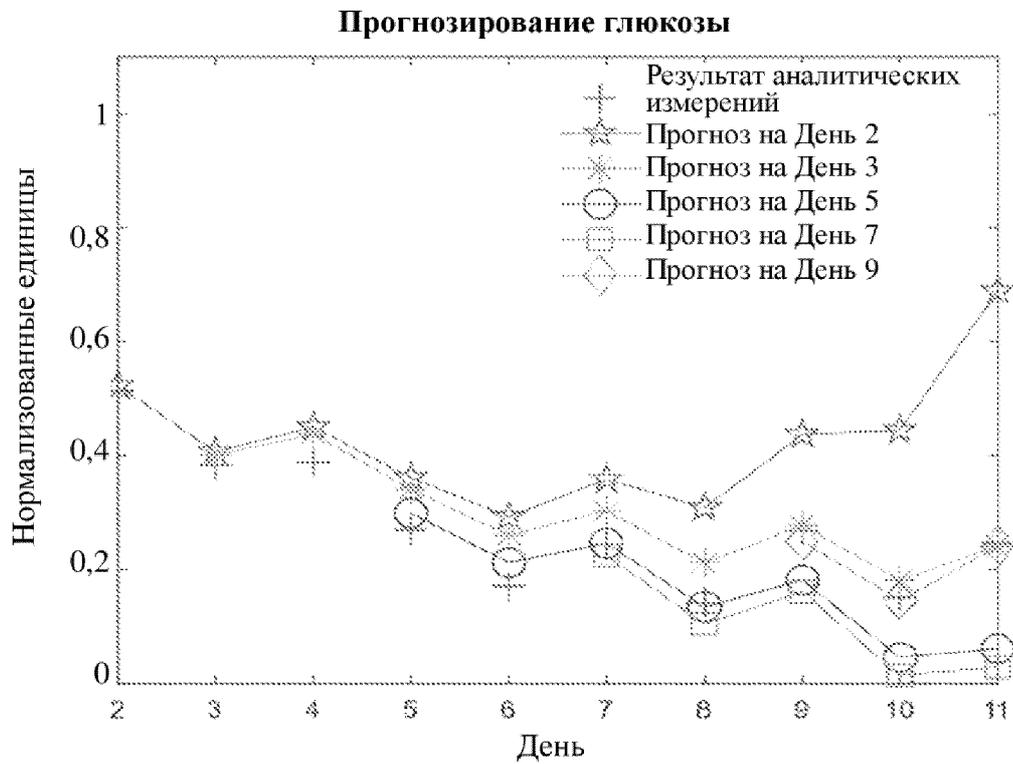
**Прогнозирование TCD**



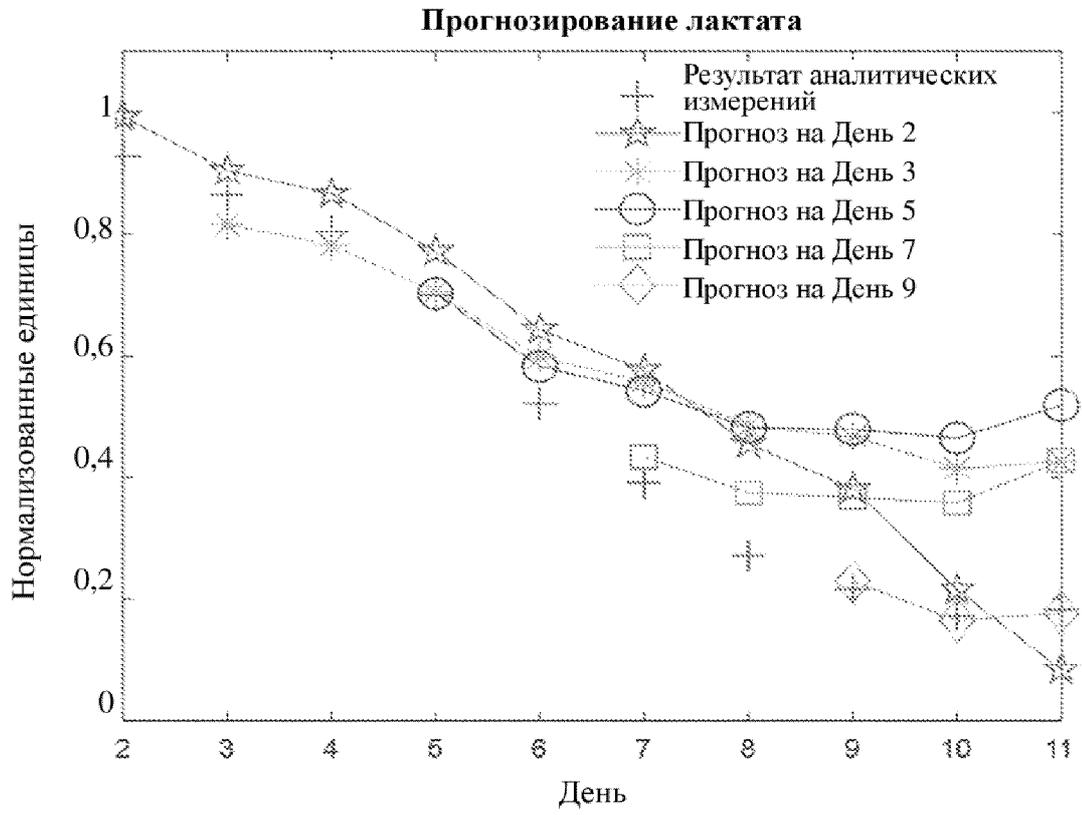
**Фиг. 7В**



Фиг. 7С

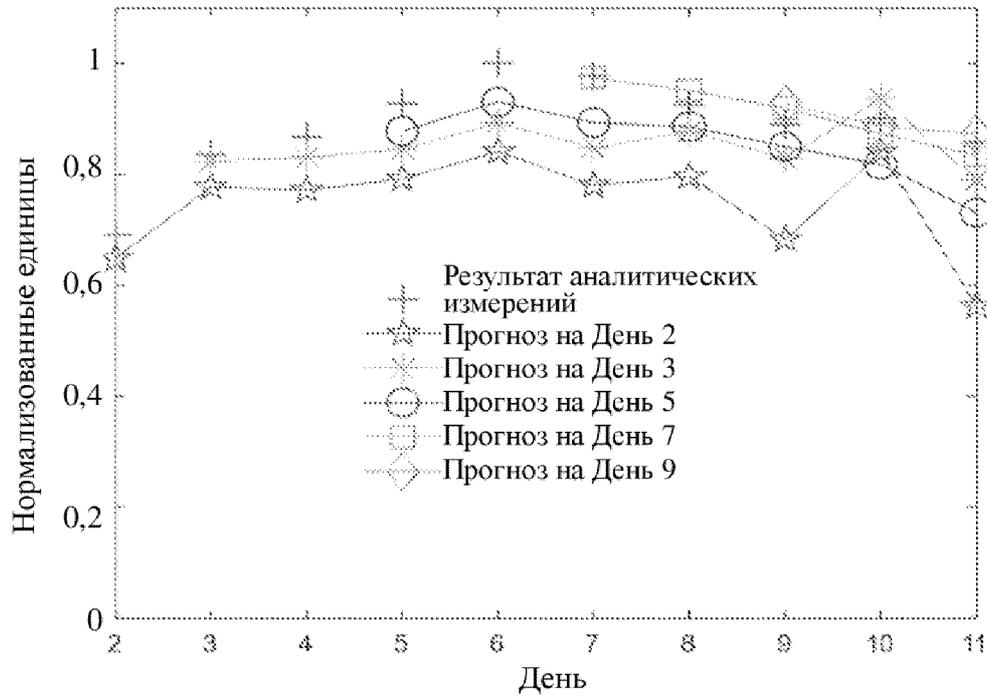


Фиг. 7D



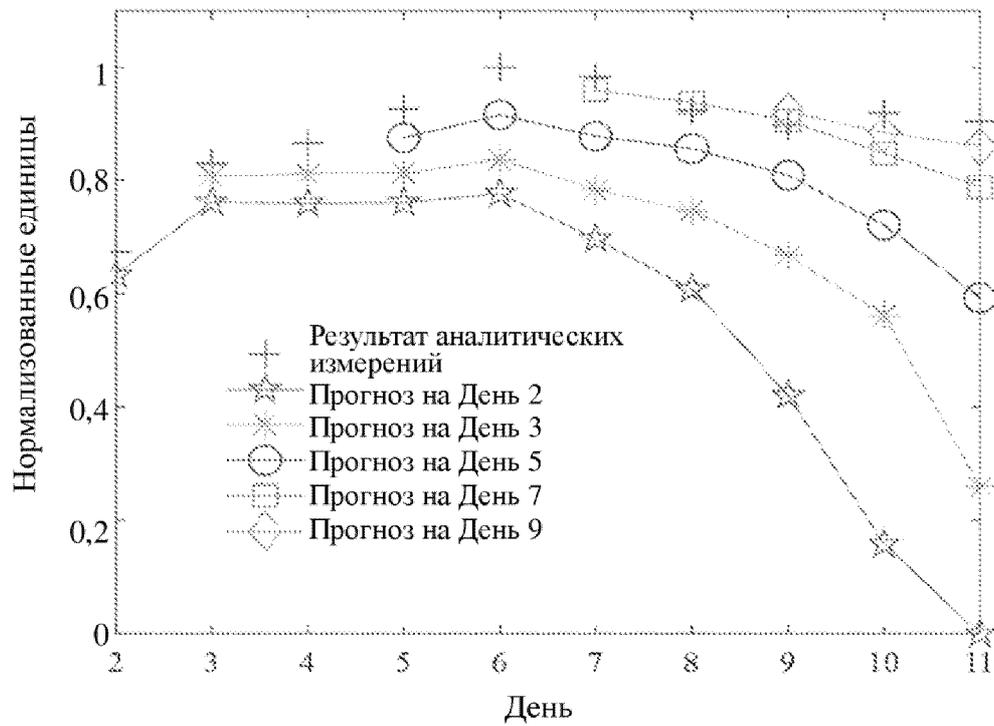
Фиг. 7Е

## Прогнозирование VCD

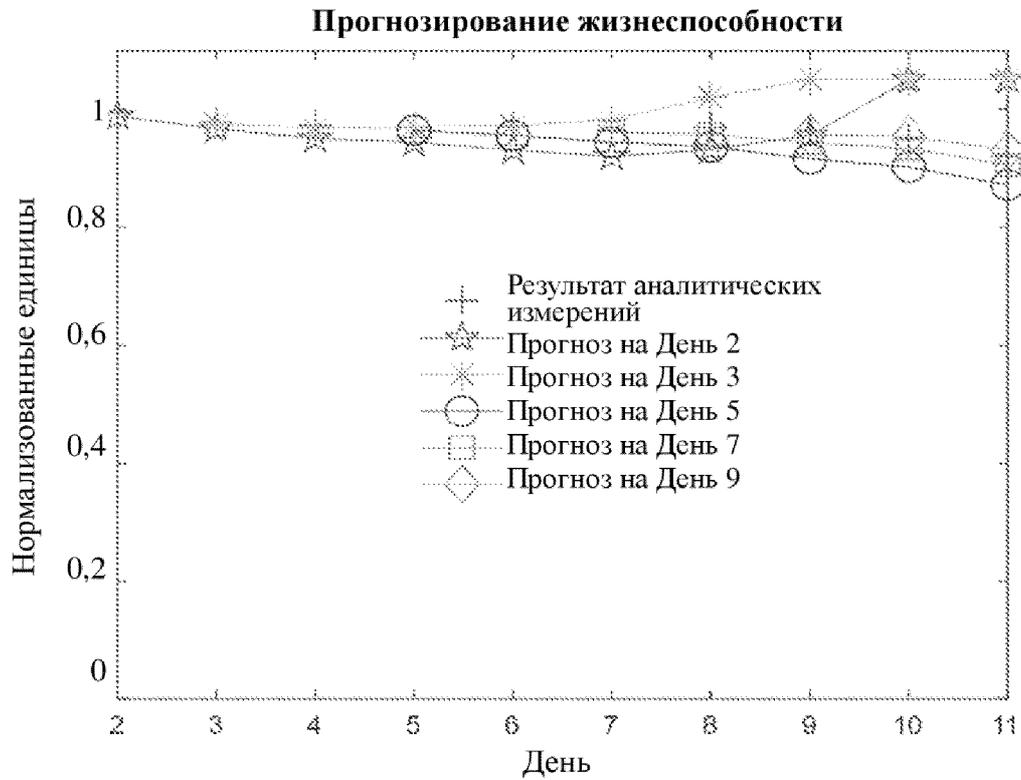


Фиг. 8А

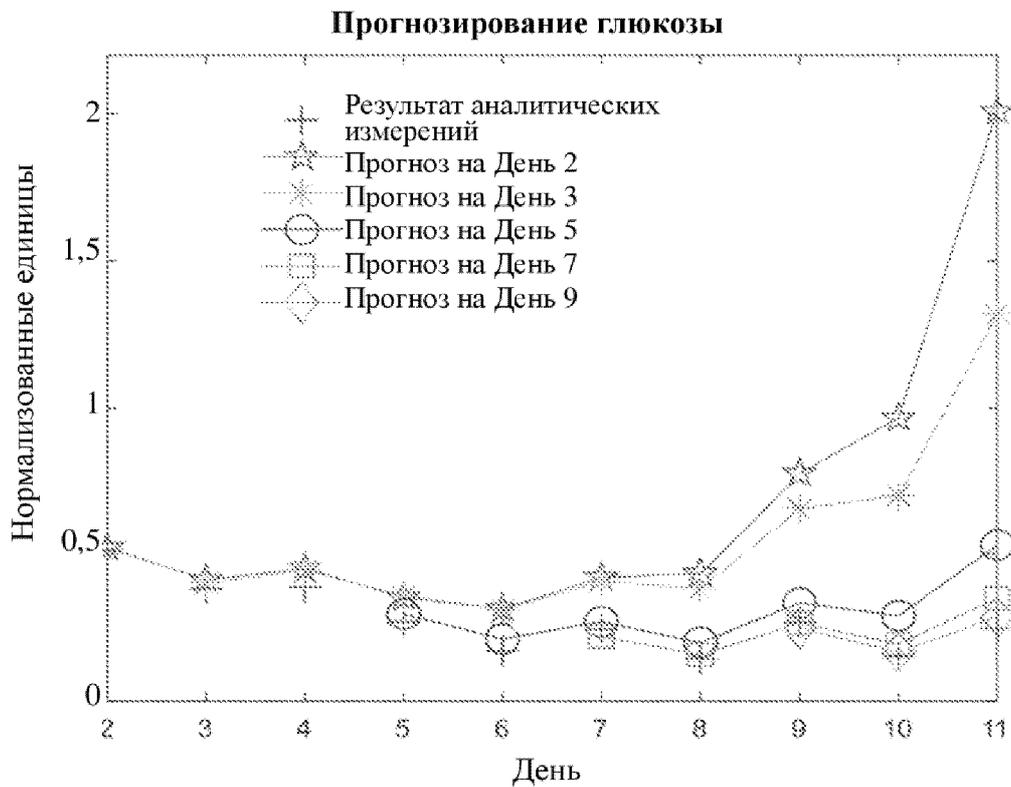
## Прогнозирование TCD



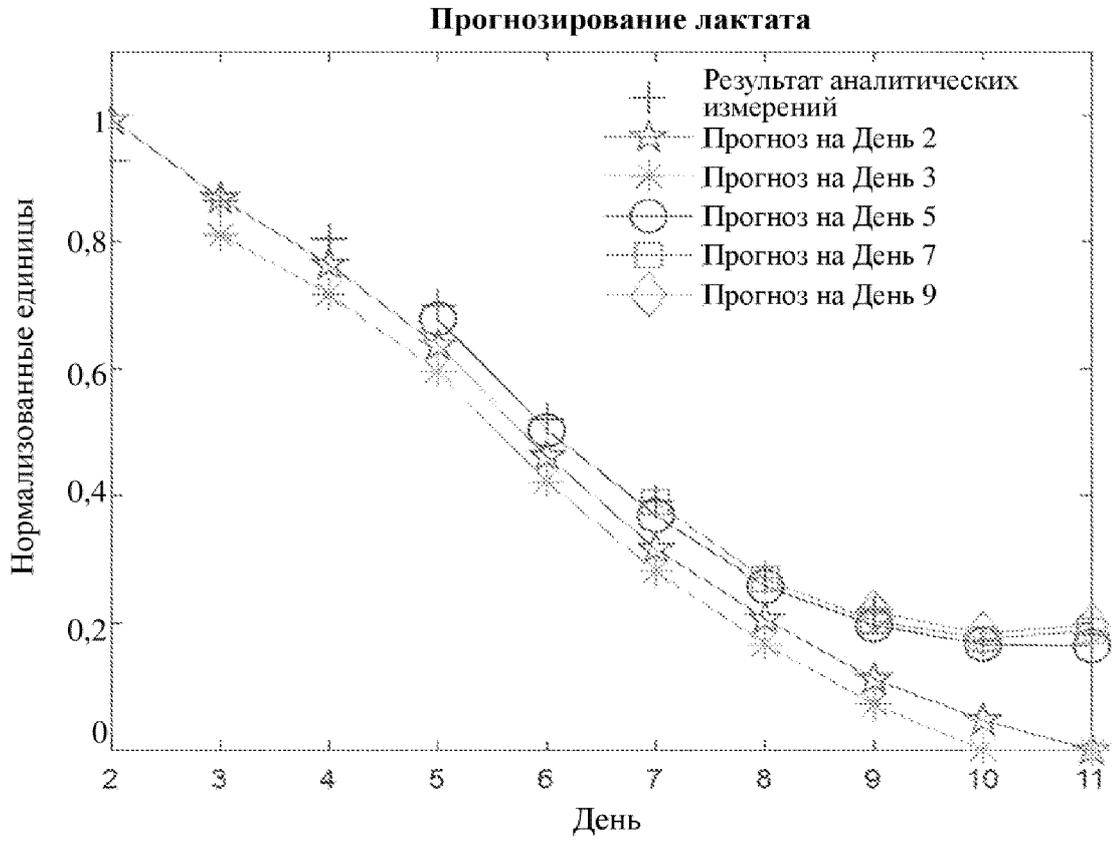
Фиг. 8В



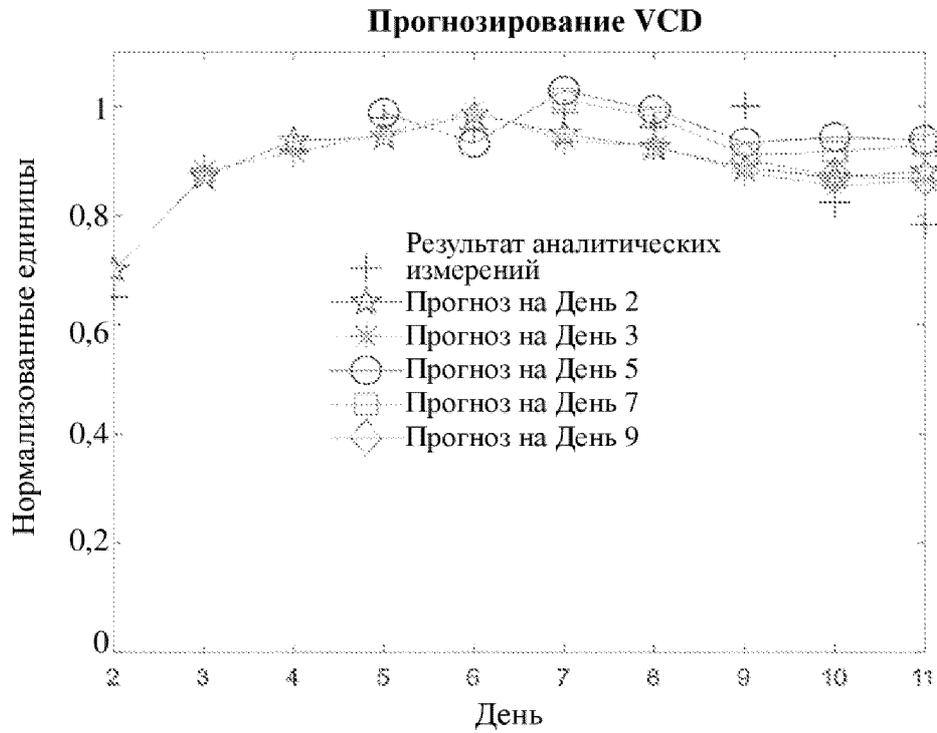
Фиг. 8С



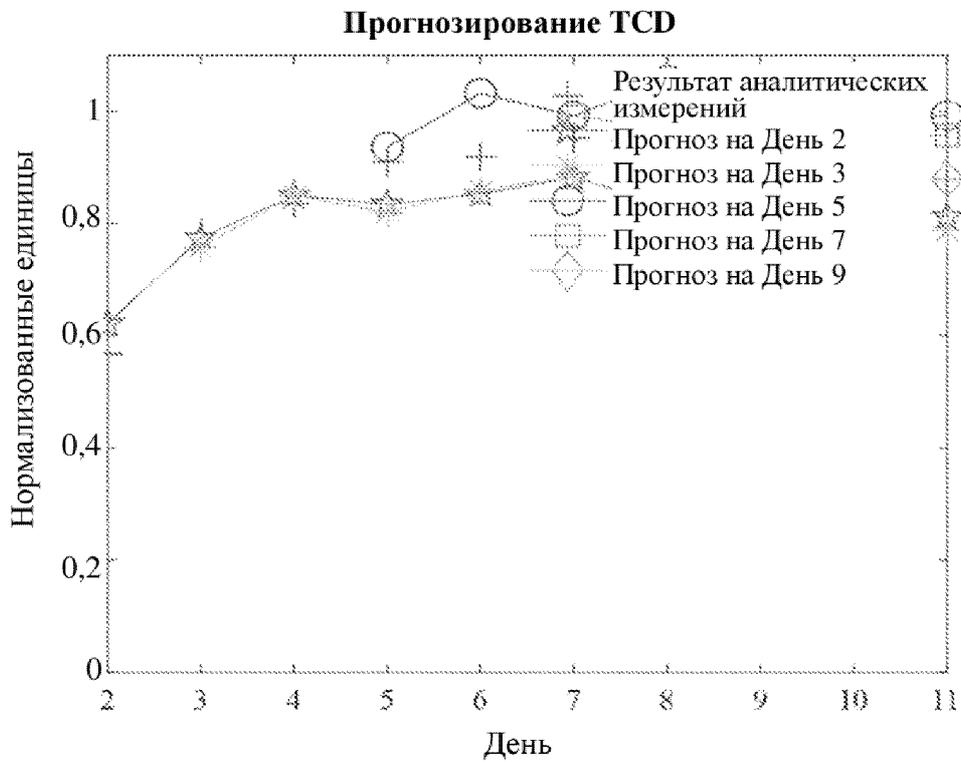
Фиг. 8D



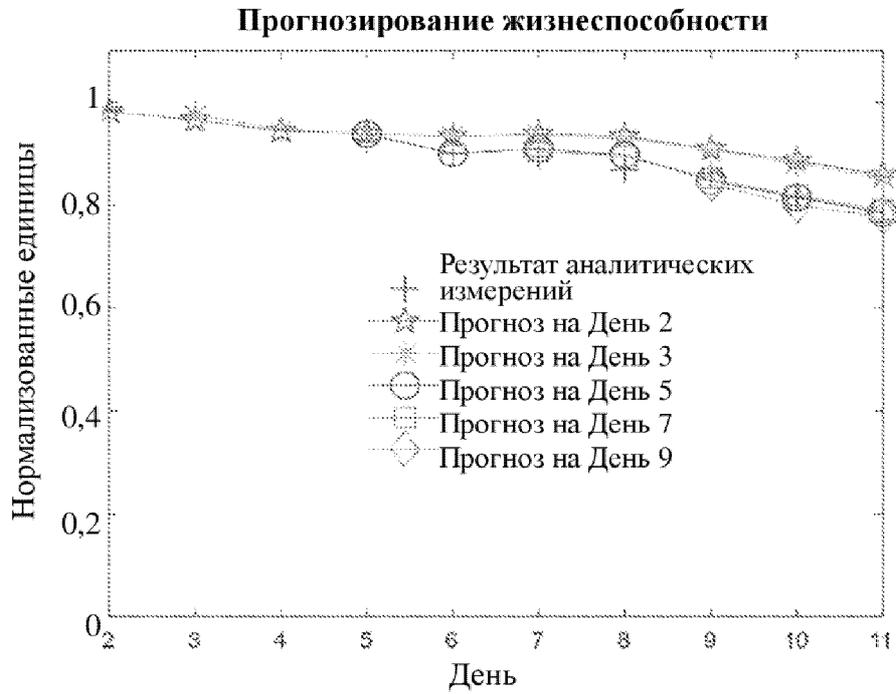
Фиг. 8Е



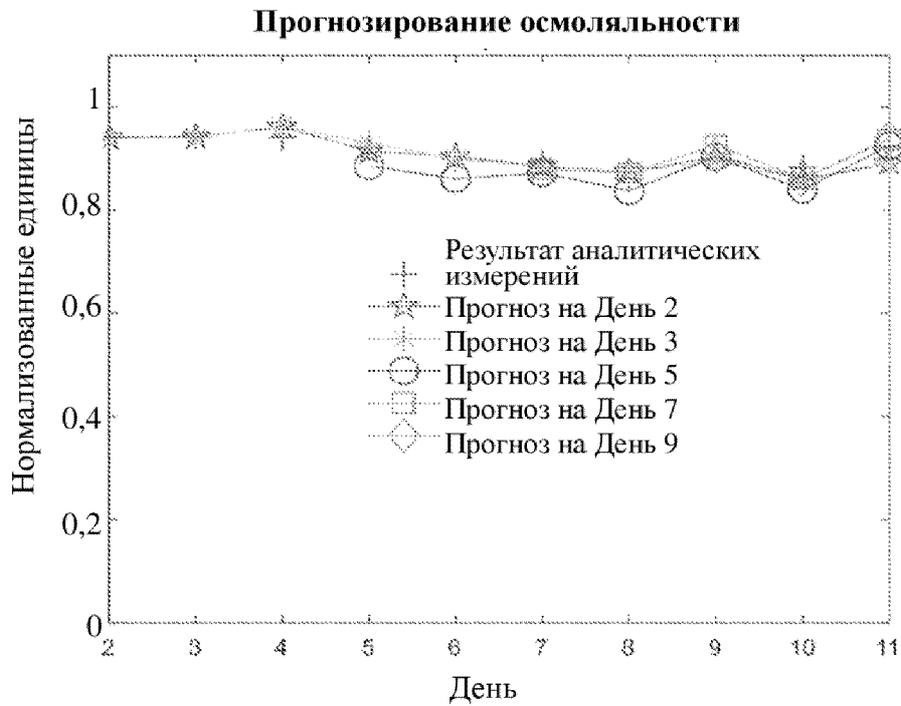
Фиг. 9А



Фиг. 9В

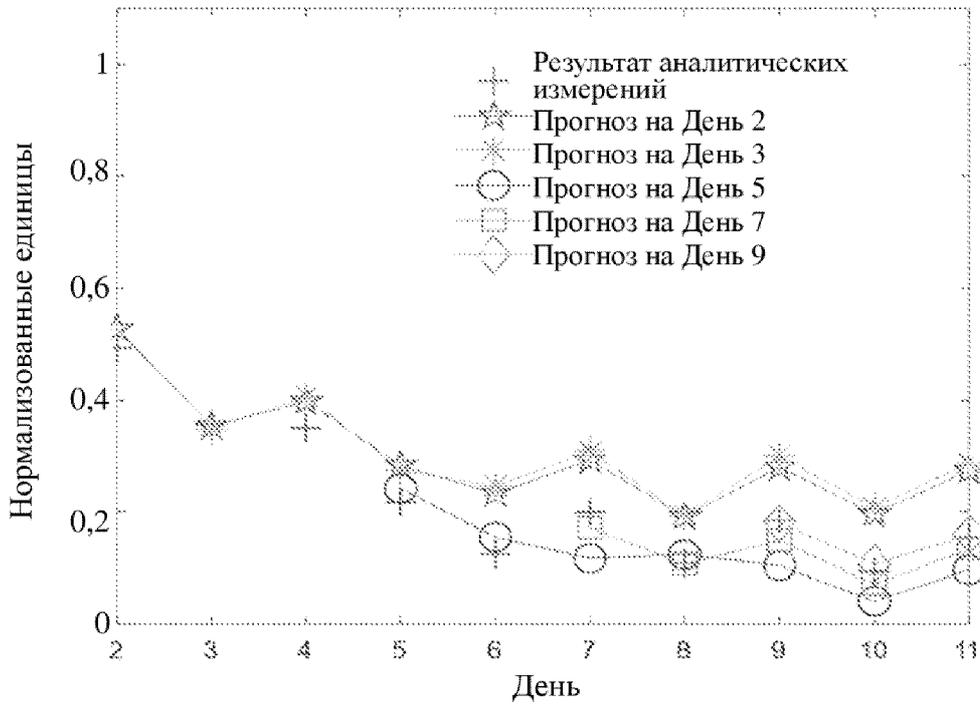


Фиг. 9С



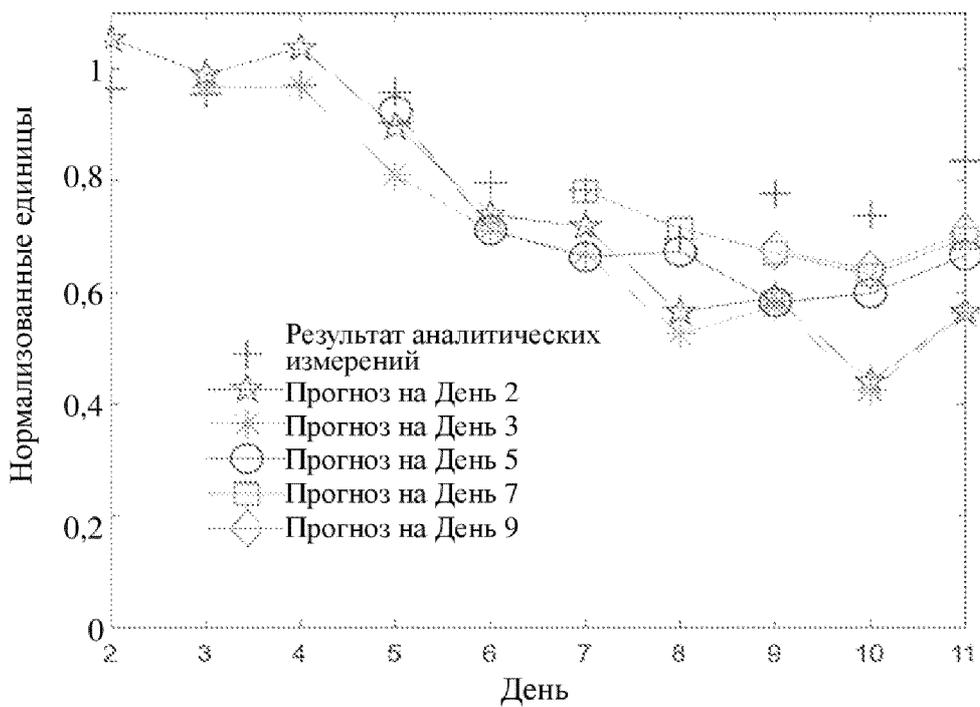
Фиг. 9D

### Прогнозирование глюкозы



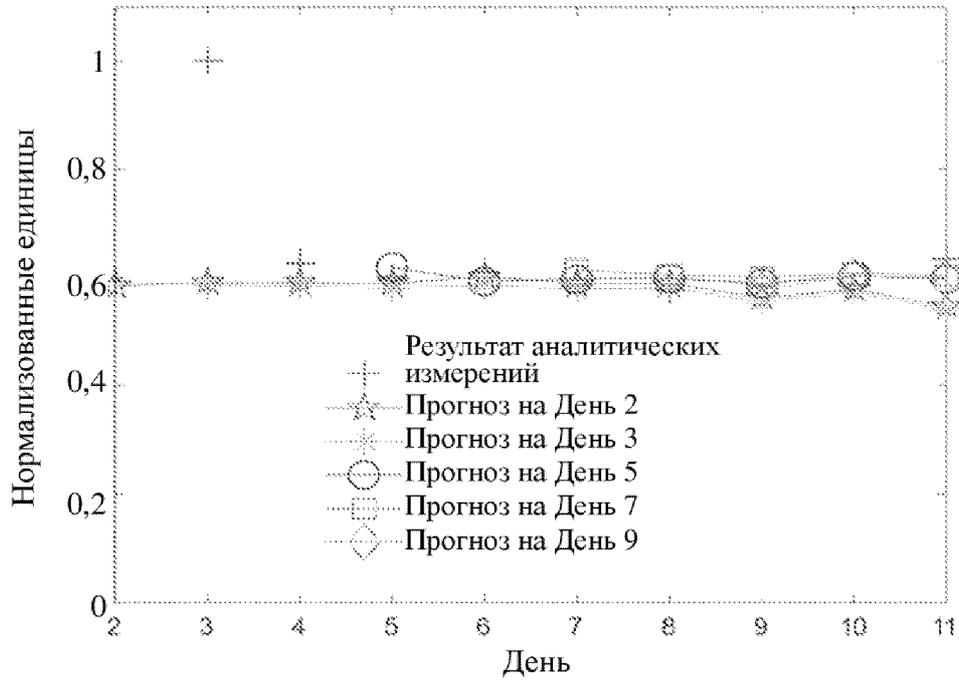
Фиг. 9Е

### Прогнозирование лактата



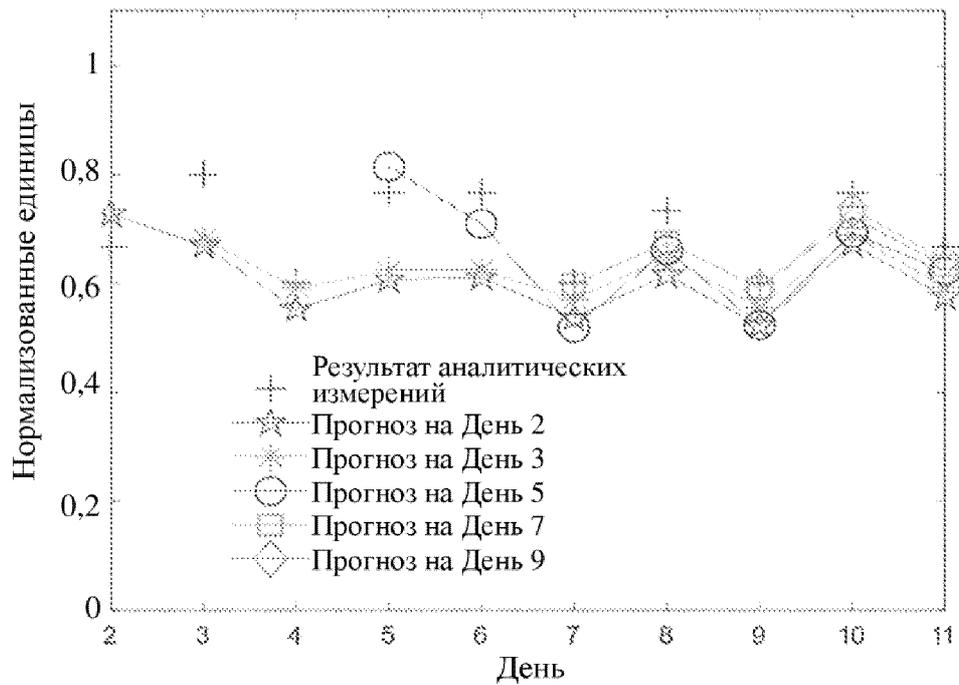
Фиг. 9F

### Прогнозирование натрия

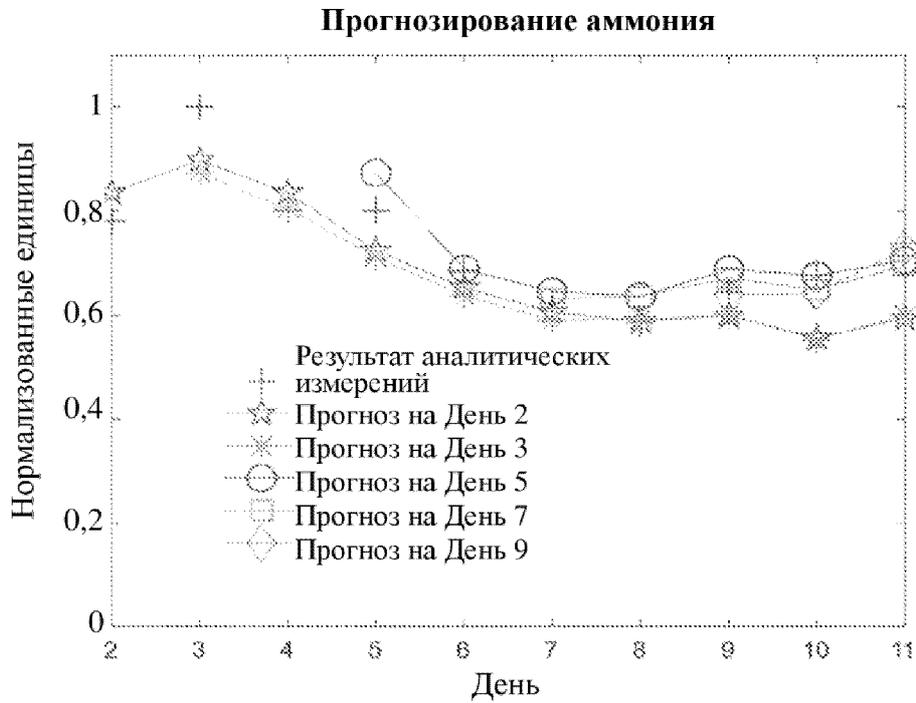


Фиг. 9Г

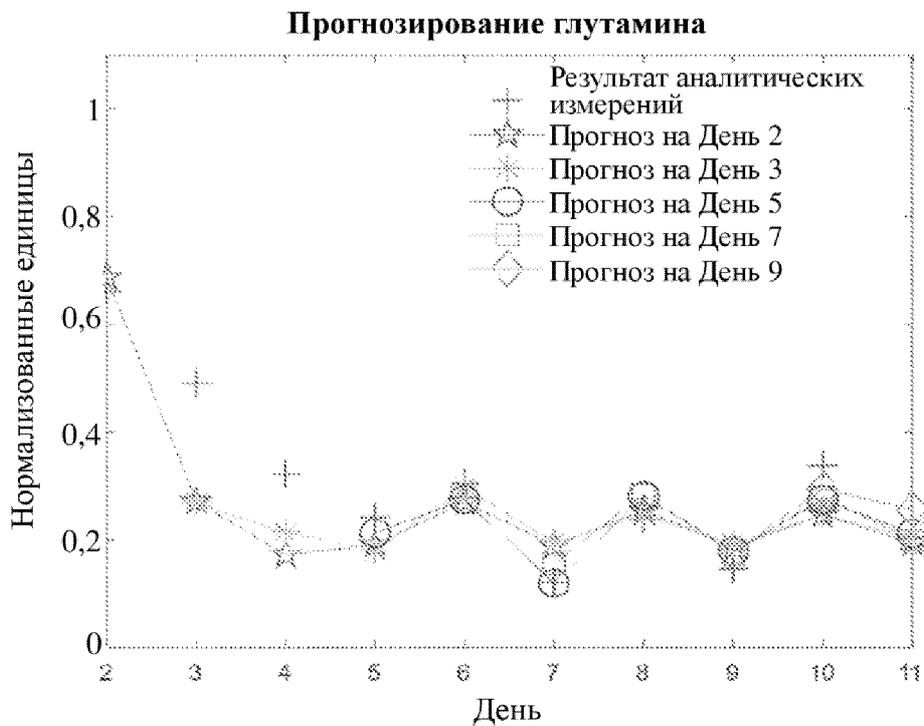
### Прогнозирование калия



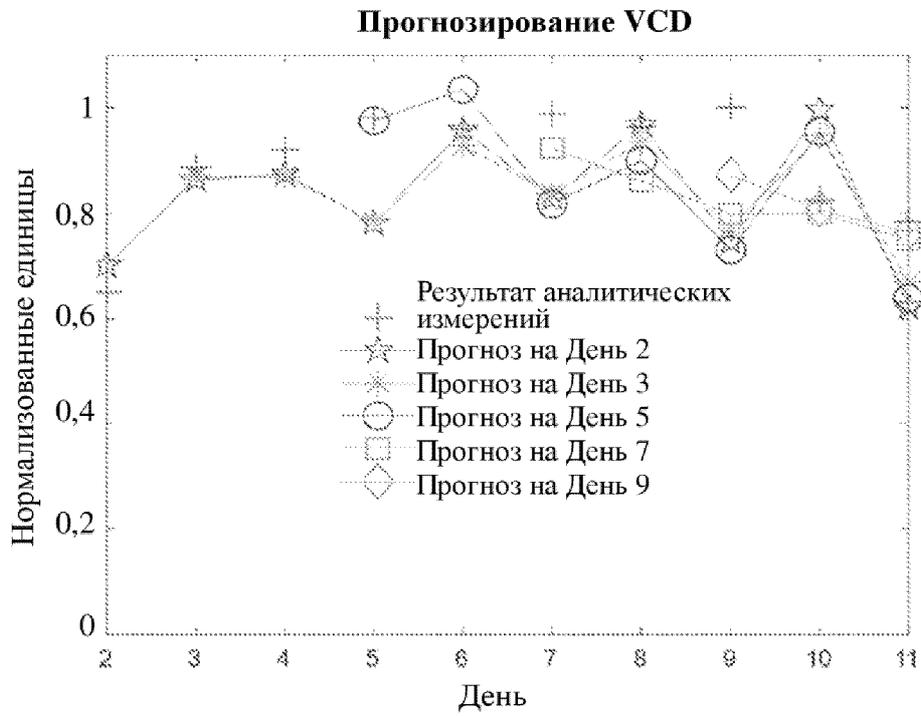
Фиг. 9Н



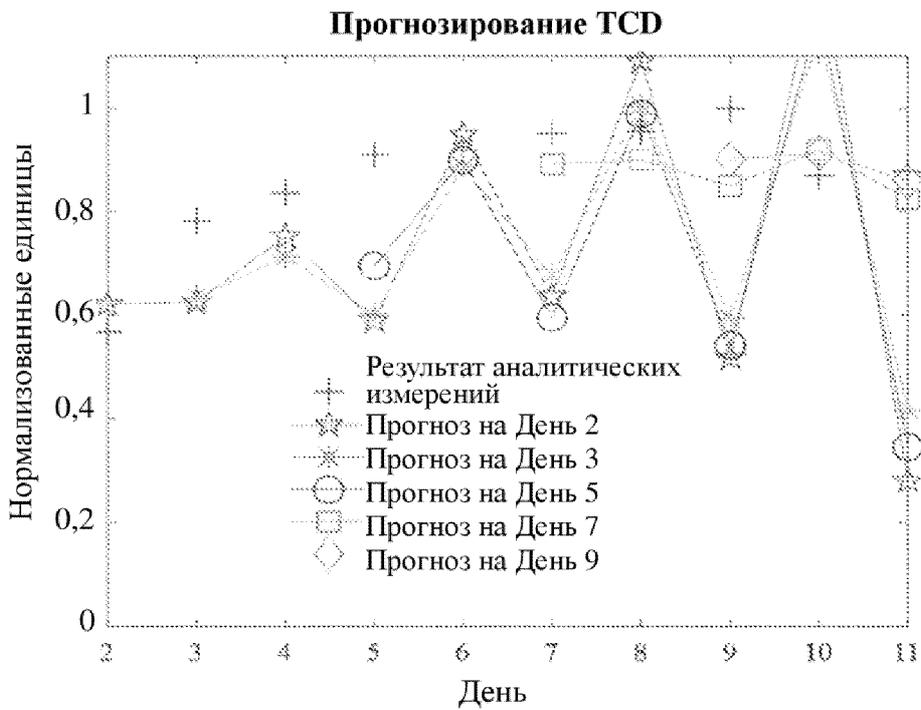
Фиг. 9I



Фиг. 9J

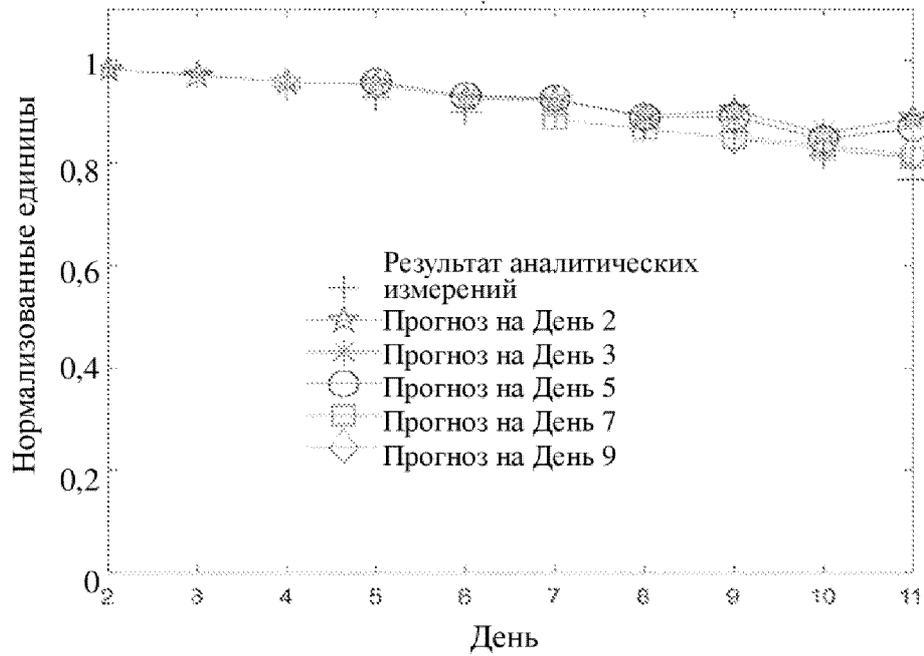


Фиг. 10А



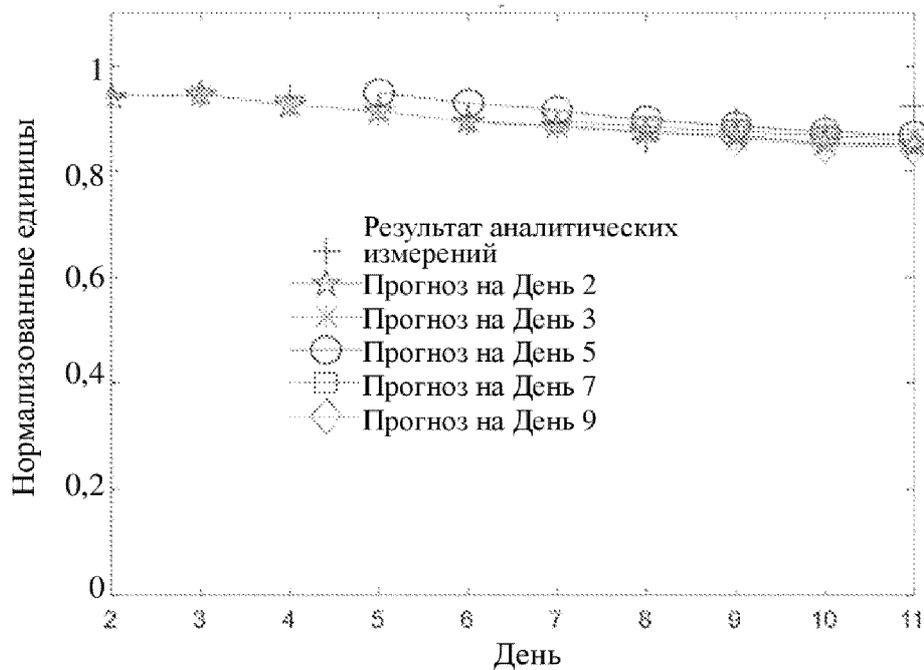
Фиг. 10В

### Прогнозирование жизнеспособности



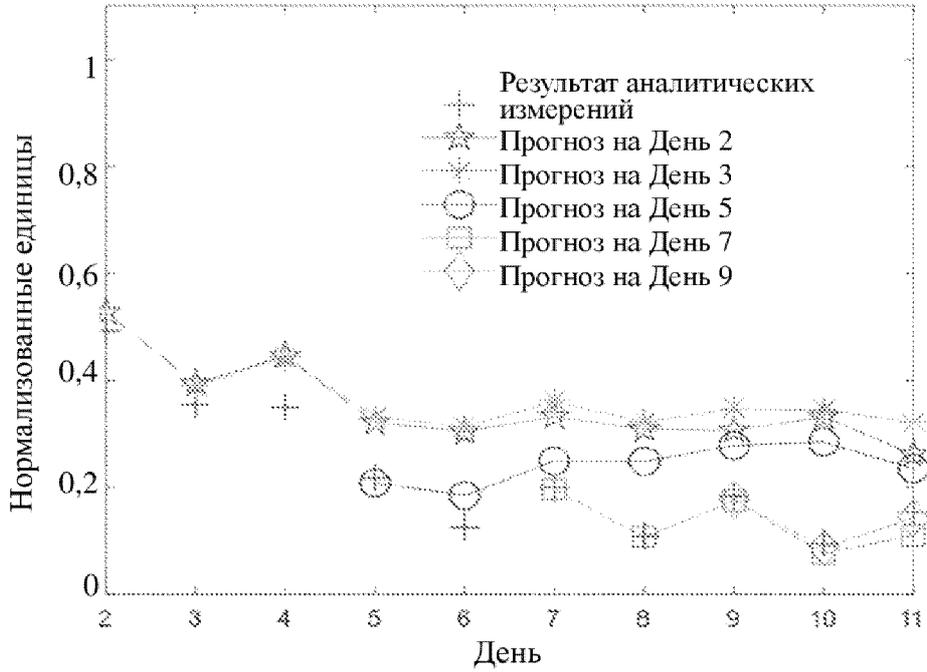
Фиг. 10С

### Прогнозирование осмоляльности



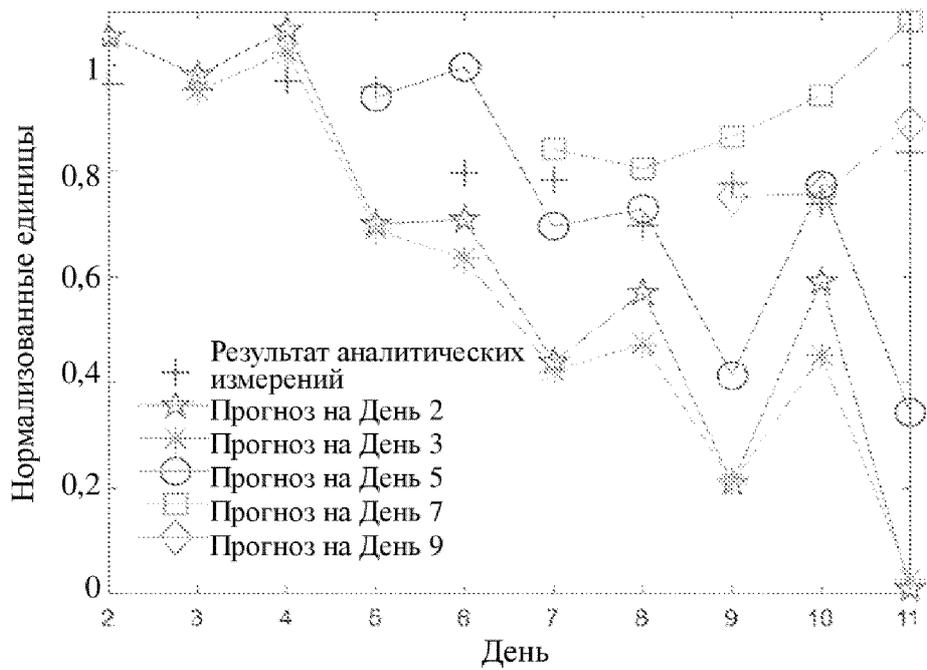
Фиг. 10D

### Прогнозирование глюкозы



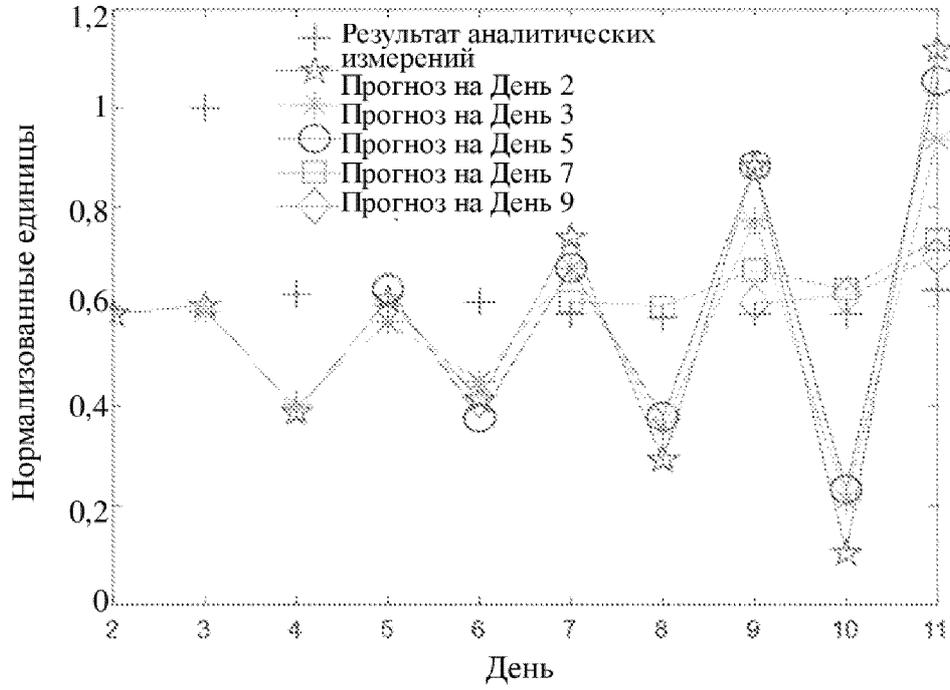
Фиг. 10Е

### Прогнозирование лактата



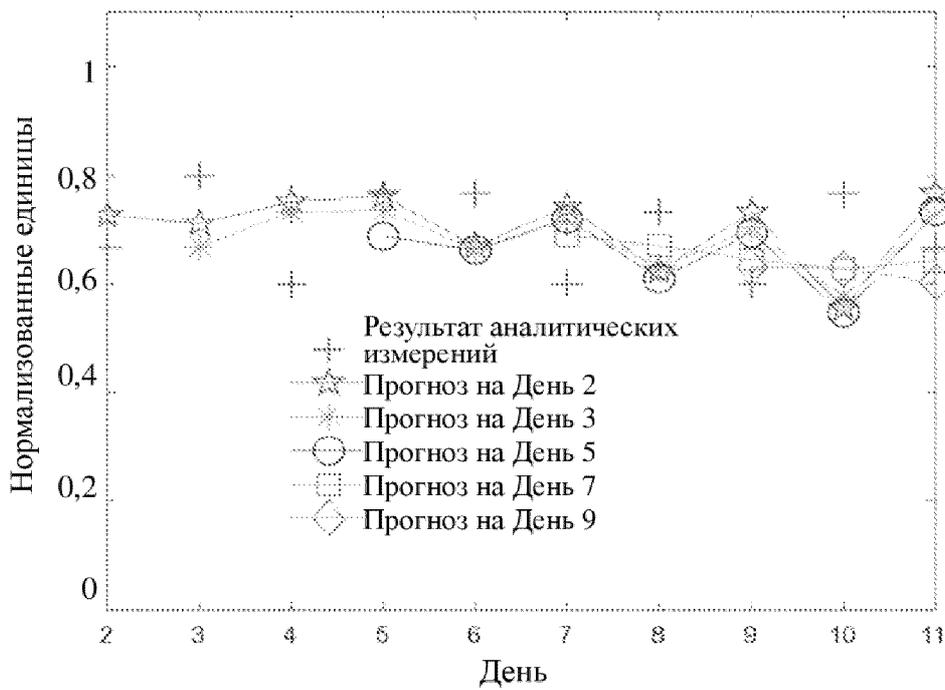
Фиг. 10F

**Прогнозирование натрия**



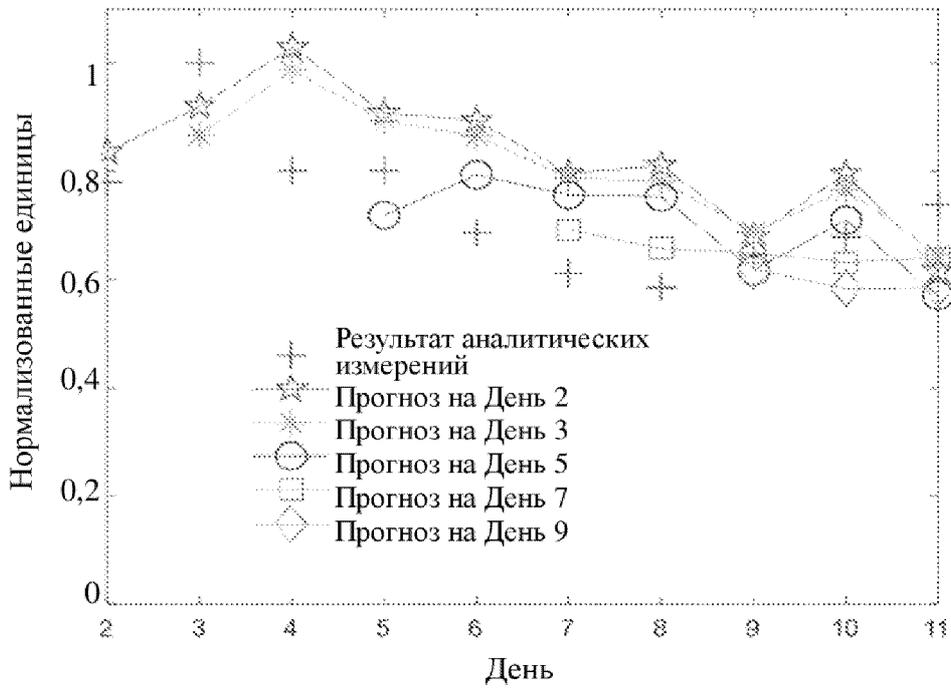
**Фиг. 10G**

**Прогнозирование калия**



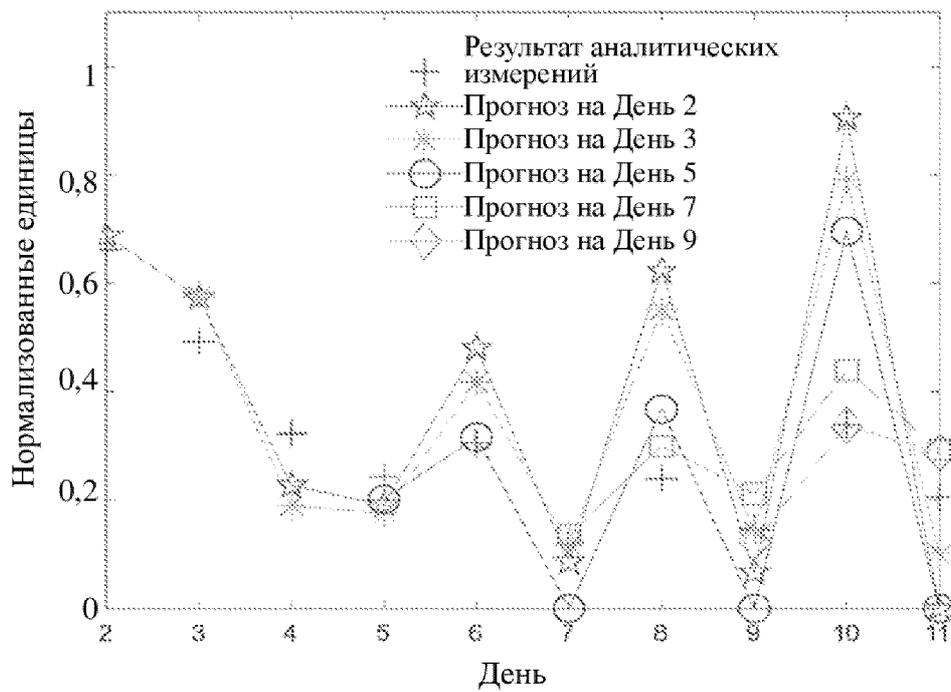
**Фиг. 10H**

## Прогнозирование аммония

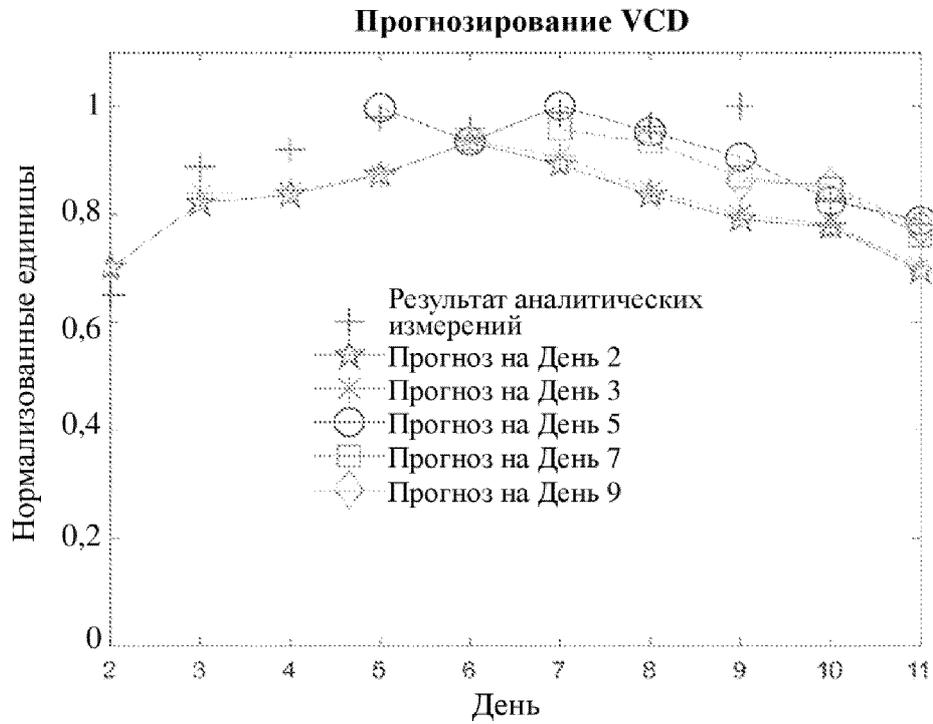


Фиг. 10I

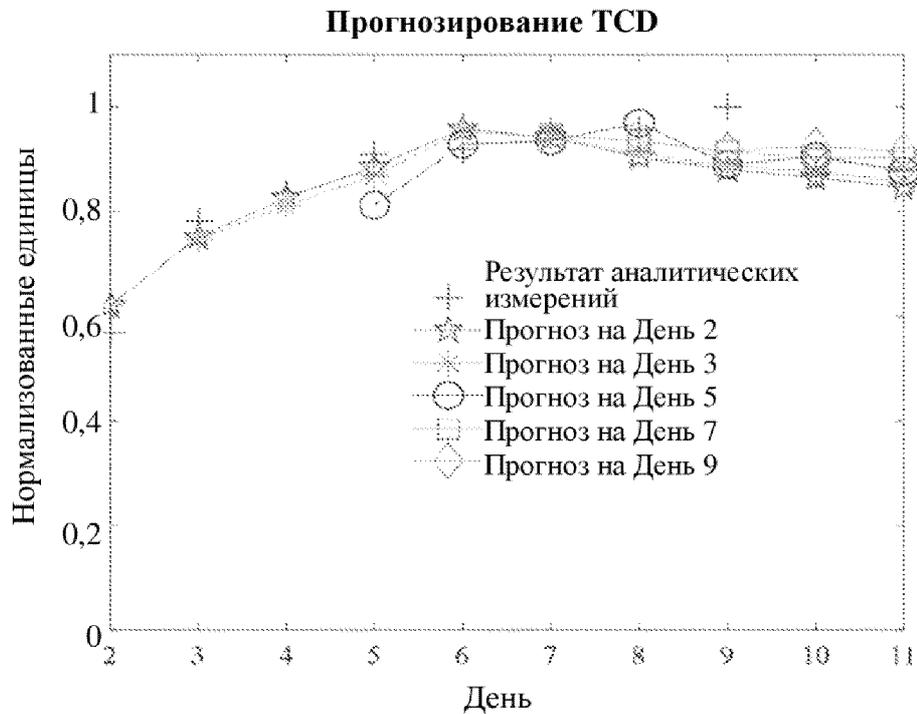
## Прогнозирование глутамина



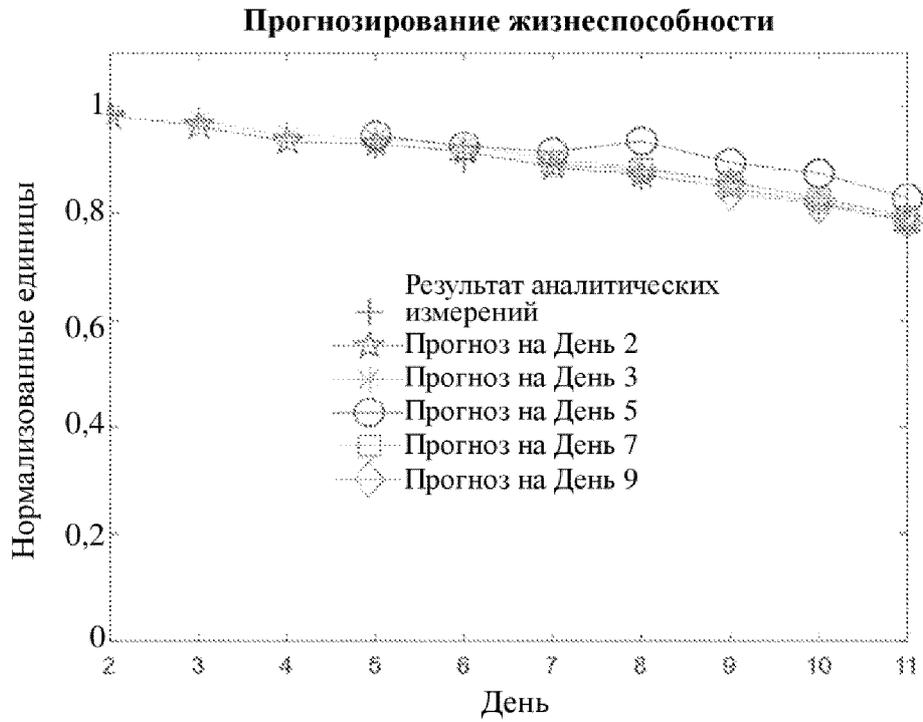
Фиг. 10J



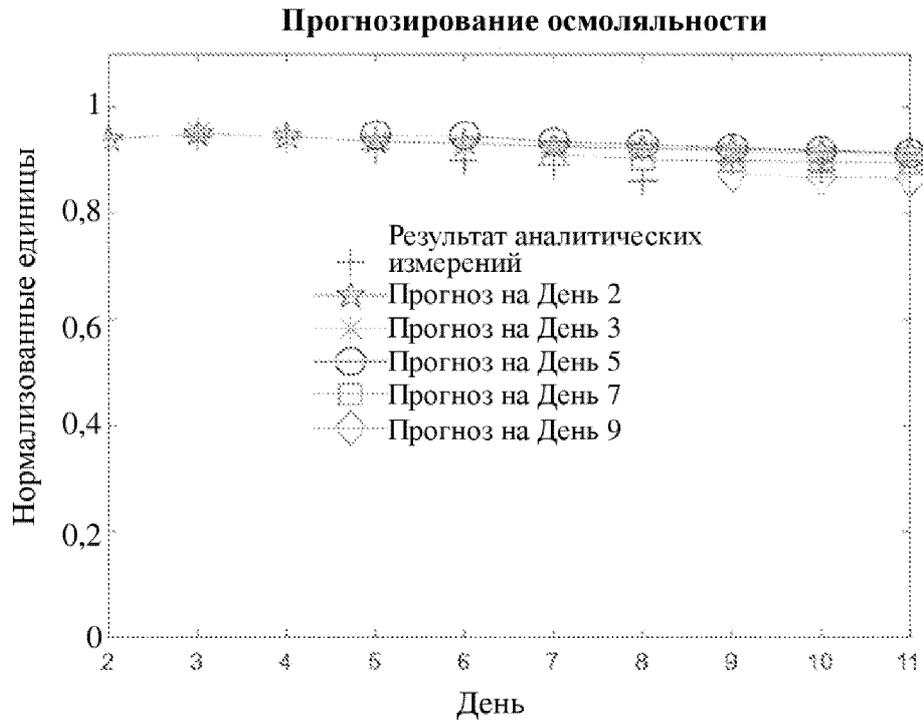
Фиг. 11А



Фиг. 11В

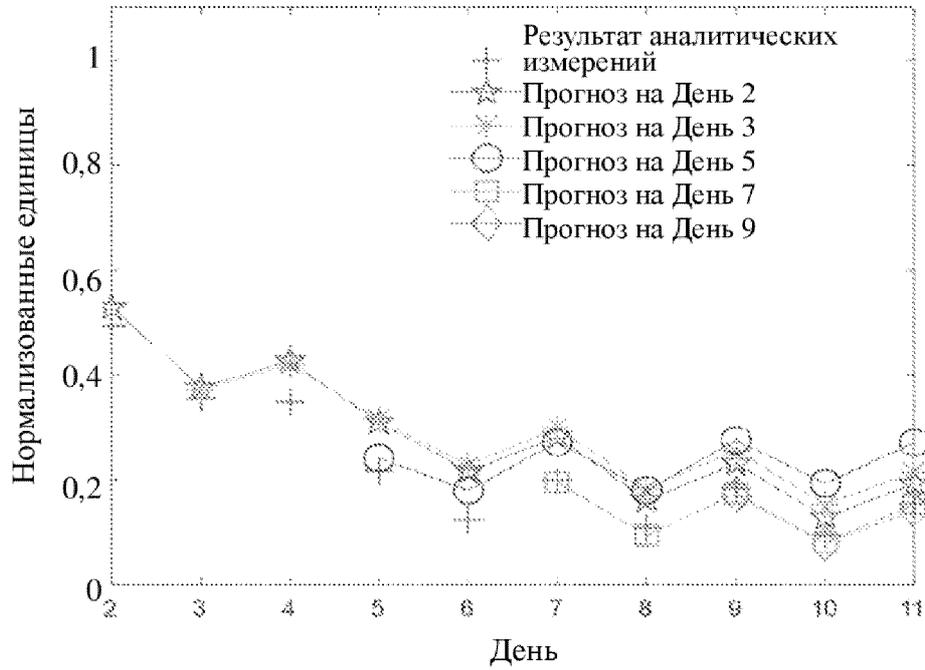


Фиг. 11С



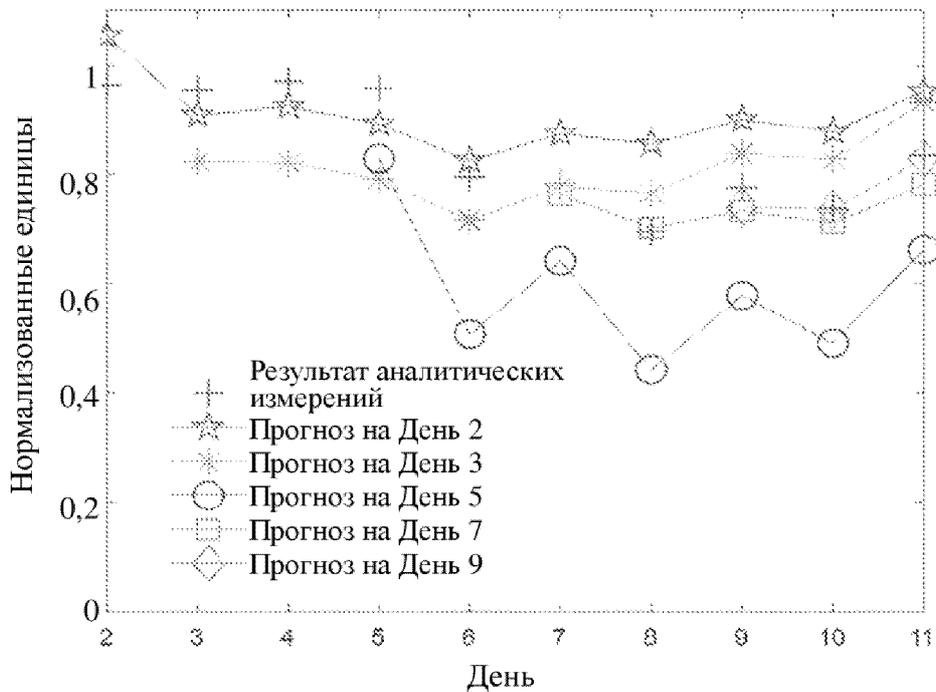
Фиг. 11D

### Прогнозирование глюкозы

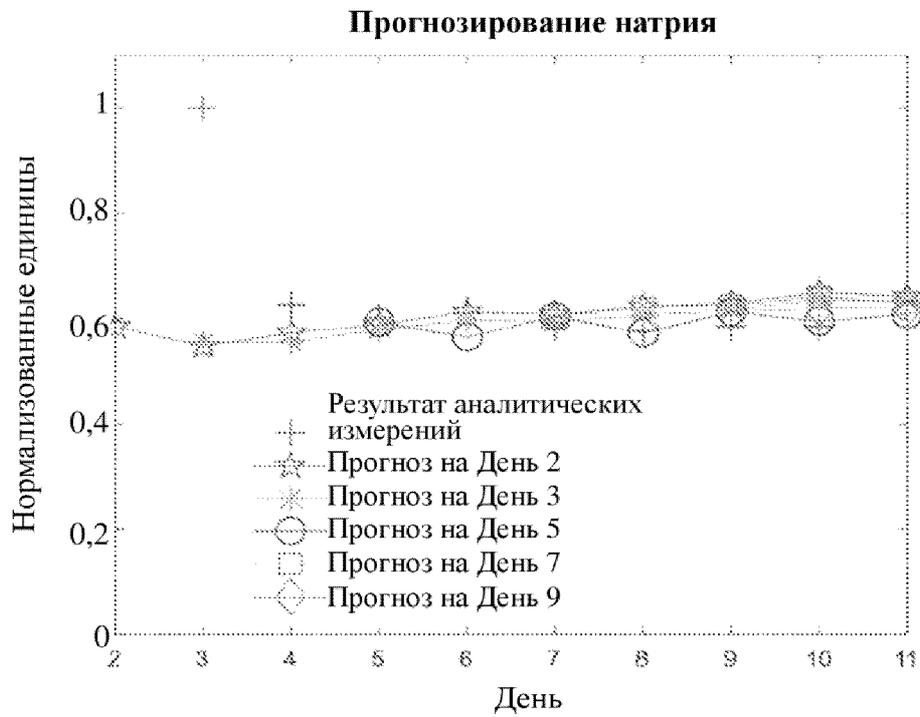


Фиг. 11Е

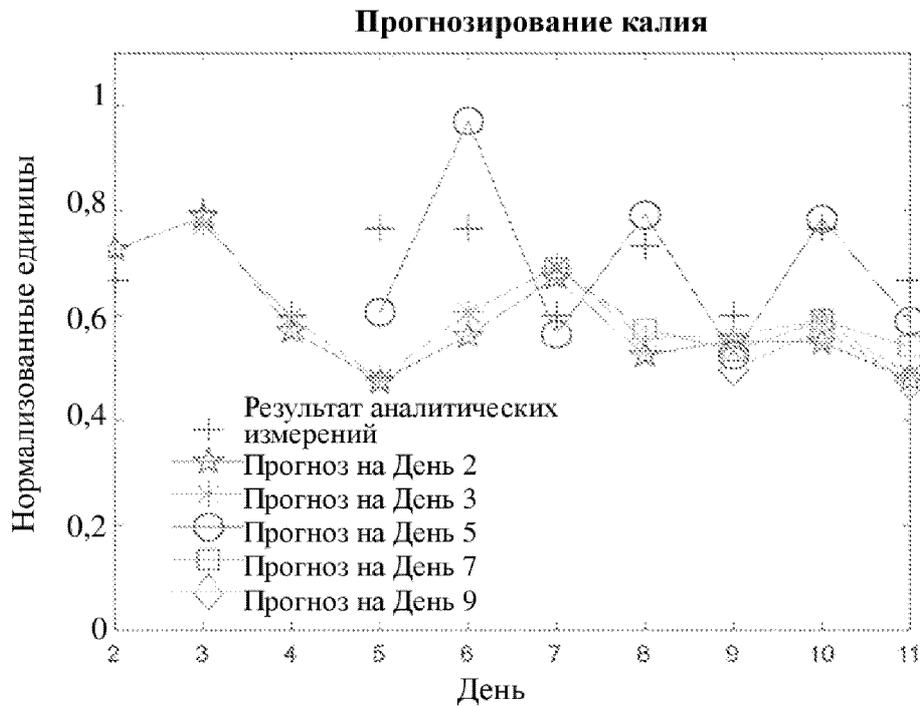
### Прогнозирование лактата



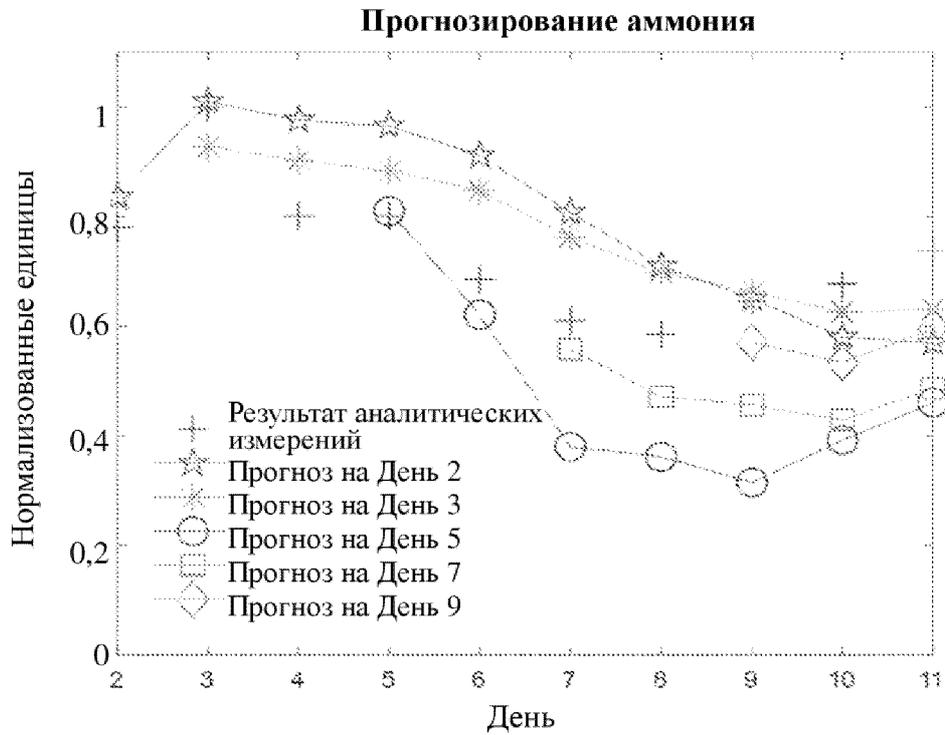
Фиг. 11F



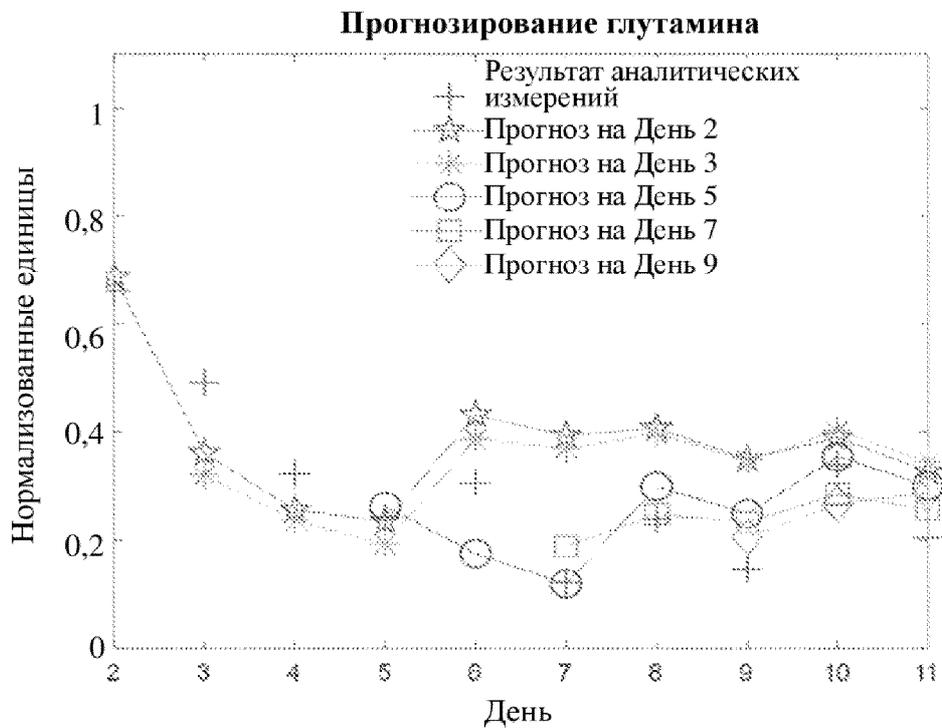
Фиг. 11Г



Фиг. 11Н

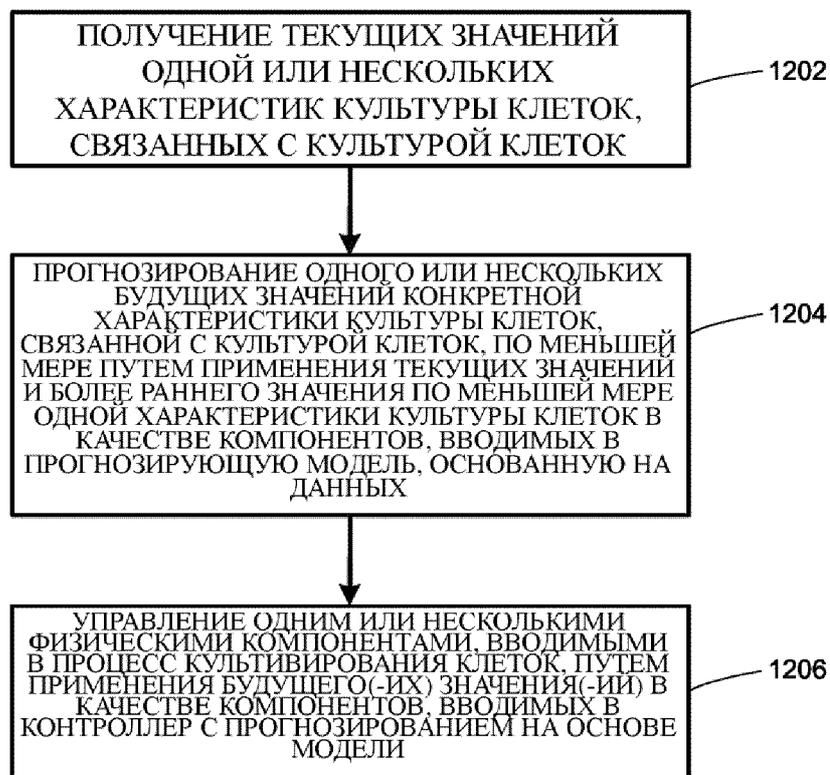


Фиг. 11I



Фиг. 11J

1200



Фиг. 12