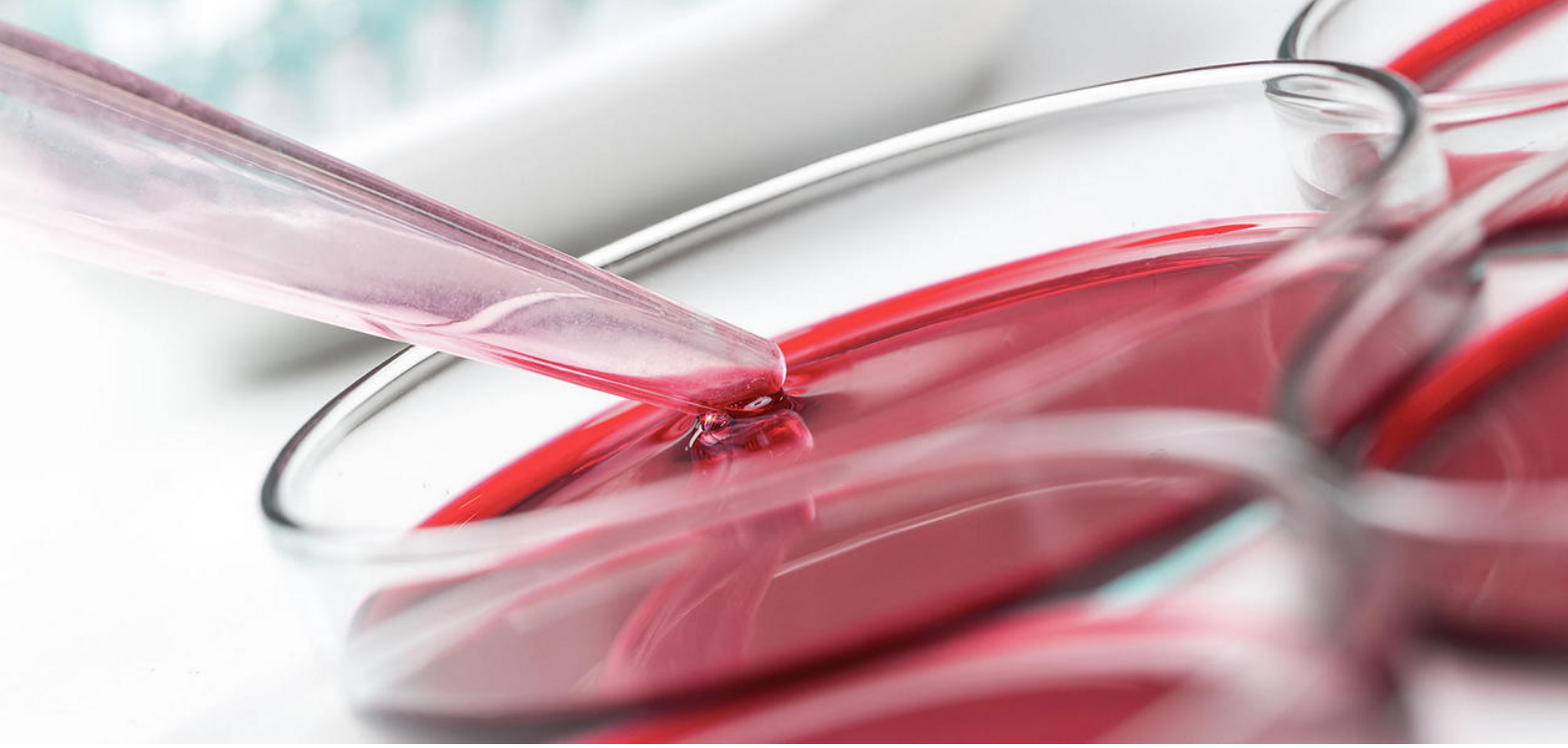


Application Note AN-PAN-1065

Monitoreo en línea de cultivos celulares con espectroscopia Raman.

El cultivo celular es una parte clave de la industria biofarmacéutica para controlar la salud de las células. Es necesario un control estricto de este proceso para superar reacciones secundarias no deseadas o rendimientos deficientes.

La glucosa es esencial para la energía celular, pero su conversión en energía mediante la glucólisis produce lactato. La acumulación de lactato induce acidez, provocando estrés celular y reducción de las tasas de crecimiento celular.

Los métodos de manuales de laboratorio pueden ser bastante engorrosos y pueden introducir sesgos según el analista, lo que da lugar a resultados inexactos y contaminación de las muestras. Para abordar estos problemas, la espectroscopia Raman en línea es una técnica de análisis muy adecuada para esta industria, ya que no requiere ningún reactivo y la muestra permanece inalterada.

Esta nota de aplicación del proceso presenta un método para monitorear con precisión el crecimiento celular dentro de un biorreactor en «tiempo real» con el analizador Raman 2060 de Metrohm Process Analytics. En este caso, un analizador de procesos en línea es la solución preferida para garantizar una alta calidad del producto y evitar la contaminación durante la medición.

INTRODUCCIÓN

El cultivo celular es un paso esencial en la producción de una amplia gama de productos biofarmacéuticos, incluidas proteínas terapéuticas complejas, anticuerpos monoclonales y vacunas.[1]. Este proceso implica el cultivo de células en un ambiente controlado, generalmente en un biorreactor, para producir el producto deseado.

La glucosa es un componente importante del cultivo celular, ya que proporciona a las células la energía que necesitan para crecer, dividirse y formar el producto final.[2]. figura 1 Ilustra el proceso fundamental de convertir la glucosa en energía dentro de una célula.

La conversión de glucosa en energía (es decir, glucólisis) da como resultado la producción de lactato, la forma ionizada de ácido láctico. La acumulación de lactato en medios de cultivo celular puede afectar negativamente al crecimiento y la productividad celular. Como el lactato funciona como un ácido, su acumulación en el medio de cultivo puede reducir el pH, induciendo estrés celular y disminuyendo las tasas de crecimiento.[4].

Para prevenir la acumulación de lactato, los fabricantes deben monitorear y ajustar las condiciones del cultivo celular para mantener los niveles de lactato dentro de un rango aceptable. Esto puede implicar medir continuamente la concentración de glucosa en el medio de cultivo, asegurando ajustes precisos para evitar una dosis excesiva o insuficiente.

Normalmente, los analistas realizan dichas mediciones manualmente (fuera de línea). Sin embargo, la contaminación es común en esta configuración y los datos no reflejan el verdadero estado del proceso de cultivo celular.

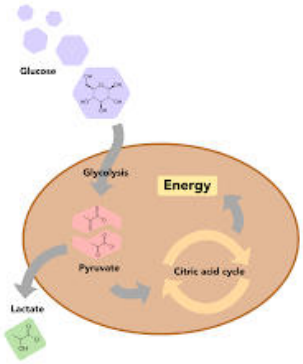


Figure 1. Descripción general del mecanismo de la glucosa en las células humanas. Extraído de [3].

Una forma más segura, eficiente y rápida de monitorear múltiples parámetros simultáneamente en biorreactores es mediante análisis en línea con espectroscopía Raman sin reactivos (figura 2). Esta es una técnica no destructiva y sin contacto, por lo que es ideal para análisis en línea directamente en el biorreactor (figura 2, lado izquierdo).

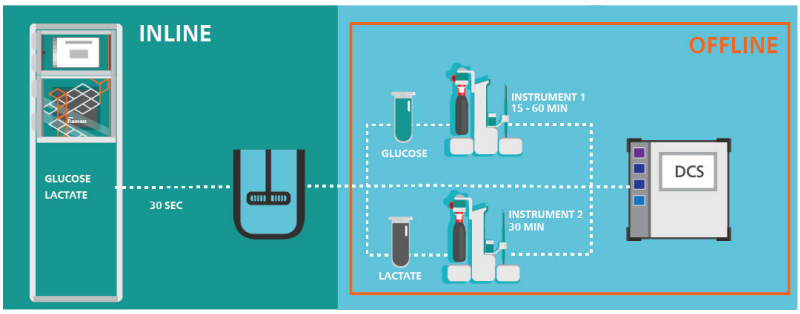


Figure 2. Pasos para medir la glucosa y el lactato en un biorreactor mediante la implementación de análisis en línea (izquierda) o fuera de línea (derecha).

El analizador Raman 2060 de Metrohm Process Analytics permite la comparación de datos espectrales en «tiempo real» del proceso con un método de referencia (p. ej., titulación, cromatografía iónica, HPLC) para crear un modelo de calibración simple pero indispensable para monitorear la glucosa y el lactato. en el biorreactor de cultivo celular.

El análisis «en tiempo real» del estado del cultivo mantiene la reacción de glucólisis bajo control. Además, el análisis en línea puede proporcionar información sobre el estado actual de diferentes procesos (p. ej., consumo de sustrato y cinética).

APLICACIÓN

Láser utilizado: 785 nm. El análisis en línea es posible utilizando una sonda de inmersión esterilizable en autoclave disenada por Metrohm Process Analytics.

Los datos espectrales se recopilaron con un analizador Raman 2060 (figura 3) utilizando el software IMPACT y Vision de Metrohm. Las mediciones se reconocieron cada minuto.



Figure 3. Analizador Raman 2060 para análisis cuantitativo de lactato y glucosa en un biorreactor de cultivo celular.

Tabla 1. Precisión de predicción de los dos parámetros medidos en un biorreactor de cultivo celular analizados por el analizador Raman 2060 (figura 3).

	Glucosa	Lactato
Concentración mínima	0,1 g/L	0,0 g/L
Concentración máxima	40 g/L	5,0 g/L
Bias	-0,1349	-0,0849
SEP	0,2009	0,1166

CONCLUSIÓN

La espectroscopia Raman se utiliza para muchas aplicaciones e industrias diferentes donde los datos de alta calidad son esenciales. El analizador Raman 2060 es un sistema Raman de alto rendimiento disenado para operaciones como la monitorización de cultivos celulares, que requieren análisis sin contacto. Junto con el software Vision e IMPACT de Metrohm, el analizador Raman 2060 se puede utilizar para adquirir resultados casi en tiempo real, respaldando procesos en los que el tiempo es crítico, como el desarrollo farmacéutico.

BENEFICIOS DE RAMAN EN PROCESO

- **Detección temprana de fallos en lotes** durante el cultivo celular.
- **Múltiples parámetros** a partir de una sola medición.
- Minimizar los riesgos de contaminación de la muestra al ser un **tecnica sin contacto**.
- Espectros Raman únicos que sirven como huellas digitales específicas para **identificacion de materiales**.
- **Senales bajas del agua.** o humedad que complementa otras técnicas de espectroscopia.
- **no destructivo** técnica, por lo que es ideal para el análisis en línea.



REFERENCIAS

1. *Cell Culture for Manufacturing*. https://www.sigmaaldrich.com/NL/en/applications/cell-culture-and-cell-culture-analysis/cell-culture-for-manufacturing?gclid=Cj0KCQiA35urBhDCARIsAOU7QwnVfIHJBACARsDiW_HbgHGXW3Fs-69CzCg6ottMMj-nmakHFZ5QTrUaAt10EALw_wcB (accessed 2023-11-29).
2. *Glucose in Cell Culture*. https://www.sigmaaldrich.com/NL/en/technical-documents/technical-article/cell-culture-and-cell-culture-analysis/mammalian-cell-culture/glucose (accessed 2023-11-29).
3. admin. The Circle of Lactate: How Cancer Cells Can Reuse Their Own Waste. *Science in the News*, 2018.
4. Li, Z.-M.; Fan, Z.-L.; Wang, X.-Y.; et al. Factors Affecting the Expression of Recombinant Protein and Improvement Strategies in Chinese Hamster Ovary Cells. *Front Bioeng Biotechnol* **2022**, *10*, 880155. https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.880155.

CONTACT

Metrohm Argentina S.A.
Avda. Regimiento de Patricios 1456
1266 Buenos Aires
info@metrohm.com.ar

CONFIGURACIÓN



2060 Raman Process Analyzer

El 2060 Raman Process Analyzer es un instrumento de análisis de procesos inline no destructivo que aplica la espectroscopía Raman a la supervisión de procesos en tiempo real y con precisión. Gracias a su capacidad de automonitorización, su espectrómetro de alto rendimiento y su estabilidad láser de larga duración, aporta información inmediata sobre la composición química y permite realizar ajustes oportunos para lograr un óptimo control de procesos, asegurando constantemente la calidad de los productos y mejorando la eficiencia operativa general.

Se pueden conectar hasta 5 sondas y/o celdas de flujo al instrumento de análisis. Cada uno de sus 5 canales puede configurarse independientemente de los demás mediante el software propietario integrado.