

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 673 021**

51 Int. Cl.:

**C12M 1/34** (2006.01)

**C12M 1/36** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.04.2015** E 15164245 (1)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.05.2018** EP 2947140

54 Título: **Sistema de control de cultivo celular, método de control de cultivo celular y medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio**

30 Prioridad:

**19.05.2014 JP 2014103719**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**19.06.2018**

73 Titular/es:

**YOKOGAWA ELECTRIC CORPORATION (100.0%)  
9-32, Naka-cho 2-chome Musashino-shi  
Tokyo 180-8750, JP**

72 Inventor/es:

**NAMATAME, TETSUSHI;  
SHIMODA, SOUICHIROU;  
SUZUKI, YASUYUKI y  
IZAKI, FUMIAKI**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 673 021 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Sistema de control de cultivo celular, método de control de cultivo celular y medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio

**Antecedentes de la invención****5 Campo de la invención**

La descripción se refiere a un sistema de control de cultivo celular, a un método de control de cultivo celular y a un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio.

Se reivindica la prioridad del documento de Solicitud de Patente Japonesa nº 2014-103719, presentada el 19 de mayo de 2014.

**10 Descripción de la técnica relacionada**

La producción de un medicamento biológico que utiliza una molécula biológica de peso molecular elevado, incluye un procedimiento de cultivo y un procedimiento de purificación. En el procedimiento de cultivo, las sustancias diana son producidas mediante una respuesta biológica. En el procedimiento de purificación, sustancias ajenas que se producen en el procedimiento de cultivo, se retiran y se mejora la pureza de las sustancias diana. En el procedimiento de cultivo de un medicamento a base de anticuerpos que representa el medicamento biológico, se utilizan principalmente células animales tales como células CHO. Sin embargo, las células animales se ven afectadas con facilidad por el entorno del cultivo. Por esa razón, en caso de que el entorno del cultivo no se conserve de forma adecuada, la cantidad y la calidad de los productos diana se ven afectados.

En comparación con un medicamento químico, la producción del medicamento biológico se ve afectado con facilidad por un procedimiento, y es difícil producir el medicamento biológico de manera estable. Por lo tanto, se desea intensamente el desarrollo de una tecnología de producción para la implementación de una producción eficiente y estable.

Las causas de la degradación del entorno de un cultivo son tales como la tensión mecánica por agitación y flujo de gases, el agotamiento de nutrientes y de oxígeno, la acumulación de material de desecho como ácido láctico y amoníaco, producido por las células. Por esa razón, se emplea un método de producción que controla los factores básicos del entorno, tales como la concentración del oxígeno disuelto, el pH, la temperatura y la tasa de agitación de un fluido de cultivo, y que suministra materiales que requieren las células durante el cultivo. Los materiales suministrados son tales como componentes de nutrientes incluidos en el fluido del cultivo y agentes que potencian el aumento para incrementar la tasa de crecimiento o la tasa de producción de las células.

Un método de cultivo para suministrar materiales durante el cultivo es uno de tipo cultivo continuo, cultivo por perfusión y cultivo alimentado por lotes. En el cultivo continuo y el cultivo por perfusión, el entorno del cultivo se puede mantener constante de forma sencilla, y se puede llevar a cabo una producción estable. Sin embargo, hay un riesgo de que una contaminación permanezca después de que se genere la contaminación, y es un inconveniente de alto coste causado por un gran consumo de fluido de cultivo.

Por otro lado, en el cultivo alimentado por lotes, aunque se añade un fluido de cultivo para la alimentación (agente de alimentación) dentro de un tanque, el fluido del cultivo para la alimentación no se retira del depósito. El cultivo alimentado por lotes es un método de cultivo para aumentar la densidad de las células disminuyendo el material de desecho, tal como ácido láctico y amoníaco que son perjudiciales para las células. Además, el cultivo alimentado por lotes es un método de cultivo mayoritario en una producción comercial actual. Por ejemplo, el cultivo alimentado por lotes se describe en el documento de publicación de la solicitud de patente japonesa no examinada nº 2003-235544, publicación de la solicitud de patente japonesa no examinada nº 2008 a 178344, y Danny Chee Fung Wong, et al., *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 89, nº 2, 20 de enero, 2005: 164-177.

En el documento de publicación de la solicitud de patente japonesa no examinada nº 2003-235544, se describe un método de cultivo para el cálculo de factores tales como una tasa de crecimiento específica y una tasa de producción específica que son importantes para el cultivo de las células. Los factores se calculan a partir de valores de seguimiento en línea (por ejemplo, pH y temperatura) y valores de análisis obtenidos mediante una toma de muestras de una concentración de células y componentes del metabolismo celular. Las células se cultivan mientras que se realiza un seguimiento de un valor previsto y de un valor real de las mismas.

En el documento de publicación de la solicitud de patente japonesa no examinada nº 2008-178344, se describe un método de cultivo para calcular un valor de la variación de un número de células vivas y un valor de reducción de los componentes del medio de cultivo. Los componentes que se incluyen en el fluido del cultivo se añaden de acuerdo con una relación entre el valor de variación de una célula viva y el valor de reducción de los componentes del medio de cultivo, y los componentes que se incluyen en el fluido de cultivo se mantienen constantes.

En los documentos de publicación de la solicitud de patente japonesa no examinada nº 2003-235544 y de

publicación de la solicitud de patente japonesa no examinada nº 2008-178344, se describen métodos de cultivo para cultivar las células mientras que el entorno del cultivo se mantiene en condiciones adecuadas. Sin embargo, en ambos métodos es necesario analizar el fluido del cultivo mediante un muestreo.

5 En Danny Chee Fung Wong, et al., *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 89, nº 2, 20 de enero de 2005: 164-177, se describe un efecto ventajoso, tal como una mejora de la tasa de producción causada por un control de una concentración baja de la fuente de nutrientes. Además, se describe que las variaciones de su concentración afectan a un patrón de glicosilación que está relacionado con la calidad de los anticuerpos.

10 Sin embargo, para el análisis de los componentes, que es necesario para los métodos de cultivo celular descritos en los documentos de publicación de la solicitud de patente japonesa no examinada nº 2003-235544 y de publicación de la solicitud de patente japonesa no examinada nº 2008-178344, se requiere aproximadamente una hora, el riesgo de contaminación se incrementa y hay una limitación de hora-persona. Por esa razón, el análisis se realiza generalmente una vez al día. Por lo tanto, las condiciones del cultivo (por ejemplo, la concentración de cada componente) no se pueden controlar a intervalos cortos.

15 Cuando las células se cultivan, por ejemplo, es difícil controlar que la "concentración de sustrato" sea constante. Por lo tanto, es difícil mantener el intervalo de concentración (aproximadamente  $\pm 0,1$  mM) descrito por Danny Chee Fung Wong, et al., *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 89, nº 2, 20 de enero, 2005: 164-177.

### Compendio

20 Un sistema de control de cultivo celular puede incluir un controlador configurado para controlar parámetros de un fluido de cultivo que existe en un procesador de acuerdo con un valor de control que se establece preliminarmente, un generador configurado para generar datos de series temporales mediante el uso de un valor de concentración de las sustancias metabólicas en el fluido de cultivo, detectándose el valor de concentración de las sustancias metabólicas mediante un sensor, un extractor configurado para extraer un punto característico de los datos de series temporales generados por el generador, y un regulador del valor de control configurado para cambiar el valor de control de acuerdo con el punto característico extraído por el extractor.

25 Otras características y aspectos de la presente descripción se harán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada de realizaciones a modo de ejemplo, haciendo referencia a los dibujos adjuntos.

30 De acuerdo con la presente invención, se proporciona un sistema de control de cultivo celular de acuerdo con la reivindicación 1, un método de control de cultivo celular de acuerdo con la reivindicación 12 y un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio de acuerdo con la reivindicación 13. Las reivindicaciones dependientes se dirigen a aspectos ventajosos adicionales de la invención.

### Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 es un dibujo que ilustra un ejemplo de un diagrama de bloques del sistema de control del cultivo celular.

La FIG. 2 es un diagrama de flujo que ilustra un método para controlar el sistema de control del cultivo celular.

La FIG. 3 es un ejemplo de un diagrama de flujo para determinar un momento de cambio del metabolismo.

35 La FIG. 4 es otro ejemplo de un diagrama de flujo para determinar un momento de cambio del metabolismo.

La FIG. 5 es otro ejemplo de un diagrama de flujo para determinar un momento de cambio del metabolismo.

La FIG. 6 es un gráfico que ilustra una relación entre el tiempo de cultivo y la tasa específica o el valor de concentración de la sustancia metabólica.

La FIG. 7 es un gráfico que ilustra una relación entre el tiempo de cultivo y la concentración de sustrato.

40 La FIG. 8 es un gráfico que ilustra un ejemplo de una relación entre el tiempo de cultivo y la densidad celular y la concentración de ácido láctico.

La FIG. 9 es un gráfico que ilustra otro ejemplo de una relación entre el tiempo de cultivo y la densidad celular y la concentración de ácido láctico.

### Descripción detallada de las realizaciones

45 Las realizaciones de la presente invención se describen ahora en este documento haciendo referencia a realizaciones preferidas ilustrativas. Los expertos en la técnica reconocerán que muchas realizaciones alternativas preferidas se pueden llevar a cabo mediante las instrucciones de la presente invención y que la presente invención no se limita a las realizaciones preferidas ilustradas en el presente documento con fines explicativos.

50 Un aspecto de la presente invención es proporcionar un sistema de control de cultivo celular, un método de control de cultivo celular y un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio que pueden controlar un valor

de salida de una operación de un factor del entorno básico y un momento en el que se añaden agentes tales como fuentes de nutrientes, agentes de alimentación y agentes potenciadores del aumento, con el fin de establecer el entorno del cultivo de acuerdo con las condiciones celulares (por ejemplo, una tasa de crecimiento específica, una tasa de producción específica y una tasa de consumo específica, y así sucesivamente).

- 5 A continuación se describirá el sistema de control de cultivo celular, el método de control de cultivo celular y un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio de la presente realización, haciendo referencia a los dibujos.

La FIG. 1 es un dibujo que ilustra un ejemplo de un diagrama de bloques del sistema de control de cultivo celular. El sistema de control de cultivo celular 1 de la presente realización está equipado con un procesador 10 (por ejemplo, un biorreactor, un tanque de tratamiento y otro tanque) y un controlador 15. El procesador 10 cultiva células en el fluido de cultivo. El controlador 15 controla los parámetros físicos y químicos del fluido de cultivo en el procesador 10 de acuerdo con un valor de control predeterminado (de aquí en adelante "valor diana"). El sistema de control de cultivo celular 1 también está equipado con un sensor 11, una memoria 13, un extractor 14 y un regulador del valor de control 19. El sensor 11 detecta un valor de concentración de sustancias metabólicas en el fluido de cultivo. La memoria 13 está equipada con un generador 13a. El generador 13a genera datos de series temporales de acuerdo con los valores de salida del sensor 11. La memoria 13 almacena los datos de series temporales generados. El extractor 14 extrae un punto característico a partir de los datos de series temporales. El regulador del valor de control 19 cambia el valor de control (valor diana) de acuerdo con un valor de salida del extractor 14.

- 20 Gracias a esta configuración descrita anteriormente, el controlador 15 que forma parte del sistema de control de cultivo celular 1 puede controlar los parámetros físicos y químicos del fluido de cultivo en el procesador 10, de acuerdo con el valor de control predeterminado (el valor diana). Por lo tanto, en la presente realización, una concentración de sustrato se puede controlar de acuerdo con las condiciones celulares. En el fluido de cultivo existente en el procesador 10, se suprime un exceso de acumulación de material de desecho. Como resultado, el sistema de control de cultivo celular 1 puede aumentar la densidad de las células y hacer que la concentración de los productos sea alta, manteniendo la concentración adecuada para la producción de los productos. Además, el sistema de control de cultivo celular 1 puede mejorar la productividad.

El valor de control es proporcionado por el generador 13a que genera los datos de series temporales de acuerdo con el valor de salida del sensor 11, la memoria 13 que almacena los datos de series temporales generados, el extractor 14 que extrae el punto característico a partir de los datos de series temporales y el generador del valor de control 19 que cambia el valor de control (valor diana) de acuerdo con el valor de salida del extractor 14.

- 30 A continuación se describirán las configuraciones detalladas del sistema de control de cultivo celular 1 haciendo referencia a la FIG. 1.

<Sensor 11>

- 35 El sensor 11 tiene una función de seguimiento de los componentes de nutrientes en el fluido de cultivo que existe en el procesador 10 y los componentes metabólicos de las células. El sensor 11 está conectado con el procesador 10 (de aquí en adelante, también denominado un biorreactor, un tanque de tratamiento y otro tanque). En un caso de seguimiento en línea, se utiliza una parte funcional (no mostrada) del sensor 11, mientras que se inserta directamente en el procesador 10.

- 40 El sensor 11 tiene la función de calcular una densidad celular (incluyendo una tasa de supervivencia) en el fluido de cultivo, un valor de concentración de las sustancias metabólicas, un valor de concentración de las fuentes de nutrientes, un valor de pH, un valor de temperatura y un valor de la presión osmótica. Las sustancias metabólicas incluyen ácido láctico y amoníaco. Las fuentes de nutrientes incluyen glucosa y glutamina. En el sensor 11, la temperatura, el pH y la concentración de oxígeno disuelto son detectados por cada una de las partes funcionales del sensor (no mostradas) que son diferentes entre sí.

- 45 El sensor 11 detecta la densidad celular mediante la realización de un reconocimiento de imágenes con respecto a células teñidas o usando un sensor de capacitancia de tipo inmersión C (ilustrado en el sensor 11 mostrado en la FIG. 1). El "reconocimiento de imágenes con respecto a células teñidas" es un método de tinción de las células mediante la mezcla de azul de tripano y el fluido de un cultivo celular, insertando el fluido mezclado en un soporte (que tiene un espacio fijo) a base de vidrio o plástico, realizando un procesamiento de imágenes, haciendo un recuento del número de células vivas que no están teñidas y del número de células muertas que están teñidas de azul y calculando de forma automática la densidad celular y la tasa de supervivencia. En lugar del método de recuento, el número de células vivas y el número de células muertas se puede contar manualmente mediante el uso de una cámara de recuento. Como método de medición de la densidad celular, se puede emplear el NIRS (del inglés, "near-infrared (NIR) spectroscopy")

El valor de la concentración de las sustancias metabólicas y el valor de la concentración de las fuentes de nutrientes son detectados por un sensor D (ilustrado en el sensor 11 mostrado en la FIG. 1) tal como un sensor de la NIRS, un sensor de un método de electrodo enzimático o un sensor de un método colorimétrico. La presión

osmótica es detectada por el sensor de la NIRS. Por ejemplo, el sensor de la NIRS detecta la presión osmótica cada pocos minutos.

5 El sensor de la NIRS crea de forma preliminar una curva estándar que asocia a cada valor de los componentes una absorbancia, y analiza muchos componentes en una sola medición. La cantidad de células y la presión osmótica se pueden analizar mediante el uso de una fluctuación de línea de base y un intervalo de absorción de agua. Una medición aislada requiere aproximadamente unos pocos minutos.

<Memoria 13>

10 La memoria 13 está conectada con un lado de salida del sensor 11. El generador 13a en la memoria 13 genera los datos de series temporales mediante el uso del valor de salida desde el sensor 11. La memoria 13 almacena los datos de series temporales creados. Por ejemplo, la memoria 13 crea los datos de series temporales cada pocos minutos. La memoria 13 está conectada con un lado de salida de la calculadora 12. El generador 13a genera datos de series temporales de acuerdo con el valor de salida desde la calculadora 12. La memoria 13 almacena los datos de series temporales generados.

15 Además, la memoria 13 está conectada con el extractor 14. La memoria 13 almacena un punto característico de acuerdo con un valor de salida desde el extractor 14. El valor de salida desde el extractor 14 es tal como el valor de la concentración de las sustancias metabólicas, el valor de la tasa de producción específica de las sustancias metabólicas, el valor de concentración de las fuentes de nutrientes, el valor de la tasa de consumo específico de las fuentes de nutrientes, el valor del pH, el valor de la temperatura, el valor de la concentración del oxígeno disuelto, el valor de la tasa de consumo específico del oxígeno disuelto, el valor de la presión osmótica y así sucesivamente. El generador 13a genera los datos de series temporales a partir de ellos. La memoria 13 almacena los datos de series temporales generadas. La memoria 13 almacena también los puntos característicos obtenidos de acuerdo con esos datos de series temporales.

<Calculadora 12>

25 La calculadora 12 está conectada a la memoria 13. La calculadora 12 se conecta al sensor 11 a través de la memoria 13. La calculadora 12 calcula una tasa específica (una tasa de cada parámetro en una célula). La tasa específica es tal como la tasa de crecimiento específico, la tasa de consumo específico de las fuentes de nutrientes, y la tasa de producción específica de las sustancias metabólicas.

30 Como se muestra en la fórmula (1) descrita a continuación, la tasa de crecimiento específico  $\mu$  se relaciona con una concentración  $X_t$  de todas las células y una concentración  $X_v$  de las células vivas. Por lo tanto, la calculadora 12 puede calcular la tasa  $\mu$  de crecimiento específico  $\mu$  mediante el uso de una fórmula "la tasa de crecimiento específico  $\mu = (1 / X_v) \times (dX_t / dt)$ ".

(Fórmula 1)

$$\frac{dX_t}{dt} = \mu X_v \quad \dots (1)$$

$X_t$  : Concentración de todas las células

35  $X_v$  : Concentración de células vivas

$\mu$  : Tasa de crecimiento específico

40 Como se muestra en la fórmula (2) descrita a continuación, la tasa de consumo específico  $v_{Gluc}$  de la glucosa se relaciona con la concentración  $X_v$  de las células vivas. Por lo tanto, la calculadora 12 puede calcular la tasa de consumo específico  $v_{Gluc}$  mediante el uso de una fórmula "la tasa de consumo específico  $v_{Gluc} = (-1 / X_v) \times (dGluc / dt)$ ". La tasa de consumo específico  $v_{Gluc}$  de la glucosa es un ejemplo de la tasa de consumo específico de las fuentes de nutrientes. La calculadora 12 también calcula una tasa de consumo específico de la glutamina utilizando el mismo método de cálculo de la tasa de consumo específico de la glucosa.

(Fórmula 2)

$$\frac{dGluc}{dt} = - v_{Gluc} X_v \quad \dots (2)$$

45  $Gluc$  : Concentración de glucosa

$v_{Gluc}$  : Tasa de consumo específico de glucosa

Como se muestra en la fórmula (3) descrita a continuación, la tasa de producción específica  $\rho_{Lac}$  del ácido láctico está relacionada con la concentración  $X_v$  de las células vivas. Por lo tanto, la calculadora 12 puede calcular la tasa de producción específica  $\rho_{Lac}$  del ácido láctico mediante el uso de una fórmula "la tasa de producción específica  $\rho_{Lac} = (1 / X_v) \times (dLac / dt)$ ". La tasa de producción específica  $\rho_{Lac}$  del ácido láctico es un ejemplo de la tasa de producción específica de las sustancias metabólicas. La calculadora 12 también calcula una tasa de producción específica del amoníaco utilizando el mismo método de cálculo de la tasa de producción específica del ácido láctico.

(Fórmula 3)

$$\frac{dLac}{dt} = \rho_{Lac} X_v \quad \dots (3)$$

10

Lac : Concentración de ácido láctico

$\rho_{Lac}$  : Tasa de producción específica de ácido láctico

<Promediador A>

Un promediador A se incluye en la calculadora 12. El promediador A está conectado a la memoria 13. El promediador A se conecta al sensor 11 a través de la memoria 13. El promediador A calcula un valor representativo promediando el valor de salida desde el sensor 11 en un período predeterminado. Además, el promediador A también calcula un componente de la tasa del valor representativo.

15

<Extractor 14>

El extractor 14 está conectado a la memoria 13. El extractor 14 extrae el punto característico (por ejemplo, un punto de pico y un punto de cambio) de los datos de series temporales almacenados en la memoria 13. Por ejemplo, como se muestra en la FIG. 6, el extractor 14 calcula secuencialmente los valores representativos de n datos, y almacena los valores representativos calculados en la memoria 13. Debido a que el valor de cada concentración y el valor calculado incluyen cierta variabilidad, el extractor 14 calcula el valor representativo, tal como un valor promedio y un valor central de acuerdo con los n datos más recientes.

20

Específicamente, el extractor 14 extrae un punto característico a partir de los datos de series temporales del valor de concentración de las sustancias metabólicas. El extractor 14 extrae también un punto característico a partir de los datos de series temporales de la tasa de producción específica del ácido láctico. Por ejemplo, un momento de cambio del estado celular se determina de acuerdo con diagramas de flujo mostrados en la FIG. 3 y la FIG. 4, que se describirán más adelante. El extractor 14 extrae un momento en el que una señal de los datos de series temporales de la tasa específica, varía. Por ejemplo, el extractor 14 extrae un momento (punto de cambio) cuando el signo de la tasa de producción específica del ácido láctico se desplaza de positivo a negativo. El extractor 14 puede extraer un incremento o una disminución de un ángulo de inclinación de los datos de series temporales en un período en el que el signo de los datos de series temporales de la tasa específica no varía (por ejemplo, un período de tendencia en aumento, un período de tendencia en disminución y un período aproximadamente constante).

25

30

La FIG. 3 es un ejemplo de un diagrama de flujo para la determinación de un momento de cambio del metabolismo. En la FIG. 3, el momento de cambio del metabolismo se determina como el momento de cambio del estado celular. En primer lugar, el extractor 14 realiza un seguimiento de la concentración de sustrato y la concentración de sustancia metabólica (etapa S11). A continuación, el extractor 14 calcula los valores representativos de n datos (etapa S12). Después, el extractor 14 calcula una función derivada con respecto a los datos de series temporales de los valores representativos (etapa S13).

35

40

A continuación, el extractor 14 determina si un coeficiente diferencial de la función derivada es negativo o no durante m veces en una fila (etapa S14). En caso de que el coeficiente diferencial de la función derivada no sea negativo durante m veces en una fila (etapa S14: NO), el procesamiento vuelve a la etapa S12. En caso de que el coeficiente diferencial de la función derivada sea negativo durante m veces en una fila (etapa S14: SÍ), el extractor 14 determina el momento de cambio del metabolismo como el momento de cambio del estado celular (etapa S15).

45

La FIG. 4 es otro ejemplo de un diagrama de flujo para la determinación de un momento de cambio del metabolismo. En la FIG. 4, el momento de cambio del metabolismo se determina como el momento de cambio del estado celular. En primer lugar, el extractor 14 realiza un seguimiento de la concentración de sustrato y la concentración de sustancia metabólica (etapa S21). A continuación, el extractor 14 deduce los valores representativos de n datos (etapa S22). Después, el extractor 14 calcula la tasa de producción específica de los componentes metabólicos de acuerdo con un último valor representativo y un valor representativo previo (etapa S23).

50

A continuación, el extractor 14 determina si la tasa de producción específica de los componentes metabólicos es

negativa o no durante m veces en una fila (etapa S24). En caso de que la tasa de producción específica de los componentes metabólicos no sea negativa durante m veces en una fila (etapa S24: NO), el procesamiento vuelve a la etapa S22. En caso de que la tasa de producción específica de los componentes metabólicos sea negativa durante m veces en una fila (etapa S24: SÍ), el extractor 14 determina el momento de cambio del metabolismo como el momento de cambio del estado celular (etapa S25).

<Simulador 17>

Un simulador 17 está incluido en el extractor 14. El simulador 17 está conectado a la memoria 13. El simulador 17 calcula los datos de series temporales que son desde unas pocas horas posteriores hasta un día posterior de acuerdo con los datos de series temporales almacenados en la memoria 13 mediante el uso de un modelo físico o un modelo químico (un modelo basado en un primer principio tal como un equilibrio de materiales y un equilibrio de la energía) y un modelo biológico (un modelo basado en experiencias y fenómenos de la biología). Los datos de series temporales calculados en ese momento es "un valor previsto de los datos de series temporales del valor de la concentración de las fuentes de nutrientes en el fluido de cultivo, del valor de temperatura, del valor del pH, del valor de la concentración del oxígeno disuelto, de la presión osmótica y del valor de concentración de las sustancias metabólicas".

En un caso en el que el simulador 17 utiliza el valor previsto, por ejemplo, el simulador 17 determina el momento de cambio del estado celular de acuerdo con un diagrama de flujo mostrado en la FIG. 5 que se describirá más tarde. El simulador 17 puede determinar el punto de cambio del estado celular de acuerdo con, no solo una variación por desfase del ácido láctico, sino también una variación por desfase de cada tasa específica del sustrato y de las sustancias metabólicas. Los parámetros que se utilizan para el cálculo del punto de cambio del estado celular se determinan de forma preliminar mediante la realización de un experimento preliminar. El simulador 17 emite una información que indica el punto de cambio del estado celular a un controlador aditivo 15a, un controlador de fuente de nutrientes 15b, un controlador de pH 15c, un controlador de la presión osmótica 15d, un controlador de flujo de gas 15e, un controlador de temperatura 15f y un controlador de agitación 15g. Estos controladores 15a a 15g están incluidos en el controlador 15. El punto de cambio del estado celular es el punto característico (por ejemplo, el punto de pico y el punto de cambio).

La FIG. 5 es otro ejemplo de un diagrama de flujo de la determinación de un momento de cambio del metabolismo. En la FIG. 5, el momento de cambio del metabolismo se determina como el momento de cambio del estado celular. En primer lugar, el simulador 17 detecta los datos de series temporales en tiempo real (etapa S31). A continuación, el simulador 17 simula un proceso de cultivo (etapa S32). A partir de entonces, el simulador 17 calcula los datos de series temporales que son desde unas pocas horas posteriores hasta un día posterior mediante una simulación en tiempo real (etapa S33).

A continuación, el simulador 17 determina si un valor real es un valor extremo o no de n datos que incluye el valor previsto (etapa S34). En caso de que el valor real no sea el valor extremo (etapa S34: NO), el procesamiento vuelve a la etapa S33. En caso de que el valor real sea el valor extremo (etapa S34: SÍ), el simulador 17 determina el momento de cambio del metabolismo como el momento de cambio del estado celular (etapa S35).

<Regulador del valor de control 19>

El regulador del valor de control 19 está conectado con el extractor 14. El regulador del valor de control 19 almacena preliminarmente un primer valor de control y un segundo valor de control. El regulador del valor de control 19 también almacena preliminarmente una cantidad que se va a añadir de los aditivos. Cuando el extractor 14 emite el punto característico de los datos de series temporales, el regulador del valor de control 19 determina la cantidad predeterminada que se va a añadir de los aditivos y cambia el primer valor de control al segundo valor de control como se muestra en la FIG. 7. El regulador del valor de control 19 está conectado a una unidad de entrada B. El regulador del valor de control 19 cambia el primer valor de control, el segundo valor de control y la cantidad que se va a añadir de los aditivos.

<Controlador 15>

El controlador 15 está equipado con el controlador aditivo 15a, el controlador de la fuente de nutrientes 15b, el controlador de pH 15c, el controlador de la presión osmótica 15d, el controlador de flujo de gas 15e, el controlador de temperatura 15f y el controlador de agitación 15g.

(Controlador aditivo)

El controlador aditivo 15a está conectado al regulador del valor de control 19. El controlador aditivo 15a hace que una primera unidad de control 25a efectúe una operación de suministro y una operación de bloqueo de acuerdo con la información (la cantidad que se añade de los aditivos) emitida desde el regulador del valor de control 19. Mediante este control, el controlador aditivo 15a añade los aditivos (por ejemplo, el ácido láctico y el amoníaco) desde una primera fuente de suministro 35a al fluido de cultivo en el procesador 10. De esta manera, el controlador aditivo 15a controla el valor de la concentración de los aditivos que existen en el fluido de cultivo en el procesador 10. Por ejemplo, el primer controlador 25a es tal como una válvula y un caudalímetro. La primera unidad de control

25a puede estar controlada para que tenga un estado medio abierto que no sea un estado completamente abierto y un estado cerrado.

(Controlador de la fuente de nutrientes 15b)

5 El controlador de la fuente de nutrientes 15b está conectado con el regulador del valor de control 19 y el sensor 11. El controlador de la fuente de nutrientes 15b hace que una segunda unidad de control 25b efectúe una operación de suministro y una operación de bloqueo de modo que hace que el valor de la concentración de las fuentes de nutrientes detectado por el sensor 11, se corresponda con la información (el valor de control) emitida desde el regulador del valor de control 19. Mediante este control, el controlador de la fuente de nutrientes 15b añade las fuentes de nutrientes (por ejemplo, la glucosa y la glutamina) desde una segunda fuente de suministro 35b al fluido de cultivo en el procesador 10. De esta manera, el controlador de la fuente de nutrientes 15b controla el valor de concentración de las fuentes de nutrientes que existen en el fluido de cultivo en el procesador 10. Por ejemplo, la segunda unidad de controlador 25b es tal como una válvula y un caudalímetro. La segunda unidad de control 25b puede estar controlada para que tenga un estado medio abierto que no sea un estado completamente abierto y un estado cerrado.

15 (Controlador del pH 15c)

El controlador del pH 15c está conectado con el regulador del valor de control 19 y el sensor 11. En caso de que el valor del pH detectado por el sensor 11 sea inferior a la información (valor de control) emitida desde el regulador del valor de control 19, el controlador del pH 15c hace que una tercera unidad de control 25c efectúe una operación de suministro y una operación de bloqueo con el fin de añadir solución alcalina (material de ajuste del pH) a partir de una tercera fuente de suministro 35c en el fluido de cultivo en el procesador 10. Mediante este control, el controlador del pH 15c hace que el valor del pH del fluido de cultivo en el procesador 10 sea mayor. Por el contrario, en caso de que el valor del pH detectado por el sensor 11 sea más alto que la información (valor de control) emitida desde el regulador del valor de control 19, el controlador del pH 15c hace que una quinta unidad de control 25e efectúe una operación de suministro y una operación de bloqueo de modo que se añade gas CO<sub>2</sub> (material de ajuste del pH) desde una quinta fuente de suministro 35e en el fluido de cultivo en el procesador 10. Mediante este control, el controlador del pH 15c hace que el valor del pH del fluido de cultivo en el procesador 10 sea inferior. Por ejemplo, la tercera unidad de control 25c y la quinta unidad de control 25e son tal como una válvula y un caudalímetro. La tercera unidad de control 25c y la quinta unidad de control 25e pueden estar controladas para que tengan un estado medio abierto que no sea un estado completamente abierto y un estado cerrado.

(Controlador de la presión osmótica 15d)

El controlador de la presión osmótica 15d está conectado con el regulador del valor de control 19 y el sensor 11. El controlador de la presión osmótica 15d hace que una cuarta unidad de control 25d efectúe una operación de suministro y una operación de bloqueo con el fin de que el valor de la presión osmótica detectado por el sensor 11 se corresponda con la información (valor de control) emitida desde el regulador del valor de control 19. Mediante este control, en caso de que el valor de control sea menor que el valor de la presión osmótica detectada por el sensor 11, el controlador de la presión osmótica 15d añade cloruro sódico (NaCl) desde una cuarta fuente de suministro 35d al fluido de cultivo en el procesador 10. De este modo, el controlador de la presión osmótica 15d controla la presión osmótica del fluido de cultivo en el procesador 10. Por ejemplo, la cuarta unidad de control 25d es tal como una válvula y un caudalímetro. La cuarta unidad de control 25d puede estar controlada para que esté en un estado medio abierto que no sea un estado completamente abierto y un estado cerrado.

(Controlador del flujo de gas 15e)

El controlador del flujo de gas 15e está conectado con el regulador del valor de control 19 y el sensor 11. El controlador del flujo de gas 15e hace que la quinta unidad de control 25e efectúe una operación de suministro y una operación de bloqueo con el fin de que el valor de la concentración del oxígeno disuelto detectado por el sensor 11 se corresponda con la información (el valor de control) emitida desde el regulador del valor de control 19. Mediante este control, el controlador del flujo de gas 15e añade el gas (aire, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, y así sucesivamente) desde la quinta fuente de suministro 35e en el fluido de cultivo en el procesador 10. Por ejemplo, la quinta unidad de control 25e es tal como una válvula y un caudalímetro. Debido a que la quinta unidad de control 25e suministra varios tipos de gases, es preferible que la quinta unidad de control 25e esté equipada con la válvula y el caudalímetro. Gracias a esta configuración, la quinta unidad de control 25e puede controlar la cantidad de flujo en un estado medio abierto que no sea un estado completamente abierto y un estado cerrado.

(Controlador de la temperatura 15f)

El controlador de la temperatura 15f está conectado con el regulador del valor de control 19 y el sensor 11. El controlador de la temperatura 15f controla la potencia eléctrica de un calentador (ajustador de la temperatura) de manera que el valor de la temperatura detectado por el sensor 11 se corresponda con la información (el valor de control) emitida desde el regulador del valor de control 19. El calentador (no mostrado) puede estar dispuesto en el interior del procesador 10 (en el lado del fluido de cultivo), y el calentador puede estar dispuesto fuera del



procesador 10.

(Controlador de la agitación 15g)

El controlador de la agitación 15g está conectado al regulador del valor de control 19. El controlador de la agitación 15g controla la potencia eléctrica de un motor (no mostrado) para agitar el fluido de cultivo en el procesador 10 de manera que la potencia eléctrica del motor se corresponda con la información (el valor de control) emitida desde el regulador del valor de control 19.

La FIG. 2 es un diagrama de flujo que ilustra un método para controlar el sistema de control de cultivo celular. El sistema de control de cultivo celular 1 de la presente realización realiza un seguimiento del estado del cultivo (por ejemplo, la concentración de cada componente en el fluido de cultivo). El sistema de control de cultivo celular 1 mantiene y controla un estado de cultivo adecuado. Sin embargo, el diagrama de flujo mostrado en la FIG. 2 es un ejemplo, y la presente invención no se limita al mismo.

El método para controlar el sistema de control de cultivo celular se describirá a continuación, haciendo referencia al diagrama de flujo mostrado en la FIG. 2. Uno o varios programas para ejecutar cada etapa de la FIG. 2 se almacenan en un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio. El sensor 11 detecta el valor de la concentración de las sustancias metabólicas que existen en el fluido de cultivo en el procesador 10 (etapa S1). El sensor 11 emite la información que indica el valor de la concentración detectada de las sustancias metabólicas, a la memoria 13. El generador 13a en la memoria 13 genera datos de series temporales del valor de la concentración de las sustancias metabólicas detectado por el sensor 11 (etapa S2). La memoria 13 almacena los datos de series temporales generadas. La memoria 13 emite los datos de series temporales almacenados del valor de la concentración de las sustancias metabólicas a la calculadora 12.

La calculadora 12 calcula el valor de la tasa de producción específica de las sustancias metabólicas de acuerdo con los datos de las series temporales del valor de la concentración de las sustancias metabólicas, almacenados en la memoria 13 y la densidad celular detectada por el sensor 11 (etapa S3). La calculadora 12 almacena datos de series temporales del valor de la tasa de producción específica calculado de las sustancias metabólicas en la memoria 13. La calculadora 12 emite los datos de las series temporales del valor de la concentración de las sustancias metabólicas, obtenidos a partir de la memoria 13 y los datos de las series temporales del valor de la tasa de producción específica de las sustancias metabólicas, almacenados en la memoria 13, al extractor 14.

El extractor 14 extrae un punto característico a partir de los datos de las series temporales del valor de la concentración de las sustancias metabólicas o el valor de la tasa de producción específica de las sustancias metabólicas (etapa S4). El extractor 14 emite el punto característico extraído al regulador del valor de control 19. El regulador del valor de control 19 cambia el valor de control de la concentración de las fuentes de nutrientes desde un primer valor de control a un segundo valor de control (etapa S5). El regulador del valor de control 19 emite la información (el nuevo valor de control de la cantidad que se va a añadir de los aditivos = el segundo valor de control) al controlador aditivo 15a.

El controlador aditivo 15a hace que la primera unidad de control 25a realice la operación de suministro y la operación de bloqueo de acuerdo con la información que indica la cantidad que se va a añadir de los aditivos (el nuevo valor de control de la cantidad que se va a añadir de los aditivos = el segundo valor de control) obtenida a partir del regulador del valor de control 19 (etapa S6). Mediante este control, el controlador aditivo 15a añade los aditivos (por ejemplo, los agentes de alimentación y los agentes potenciadores del aumento) desde la primera fuente de alimentación 35a al fluido de cultivo en el procesador 10. De esta manera, el controlador aditivo 15a controla el valor de la concentración de los aditivos que existen en el fluido de cultivo en el procesador 10, de modo que el valor de la concentración de los aditivos se corresponde con el segundo valor de control.

En caso de usar el valor previsto que se calcula mediante el simulador 17, la cantidad que se va a añadir de los componentes de nutrientes se calcula de manera que una diferencia entre el valor de control de la concentración y el valor previsto puede ser aproximadamente cero. La información correspondiente a la cantidad que se va a añadir calculada se emite a una bomba de adición (no mostrada) correspondiente a la primera unidad de control 25a y la primera fuente de suministro (aditivo) 35a.

En caso de que una señal que indica un cambio del estado celular se introduzca desde el extractor 14, el regulador del valor de control 19 cambia secuencialmente los valores de control de la concentración. Además, cuando la señal se introduce desde el extractor 14 al regulador del valor de control 19, el regulador del valor de control 19 emite una señal, que es una señal de acuerdo con una cantidad que se va a añadir predeterminada de los aditivos, a la bomba de adición (no mostrada) que se corresponde con la primera la primera unidad de control 25a y la primera fuente de suministro (aditivo) 35a.

El controlador de la fuente de nutrientes 15b hace que la segunda unidad de control 25b efectúe la operación de suministro y la operación de bloqueo de acuerdo con la información (el nuevo valor de control de la cantidad que se va a añadir de los aditivos = el segundo valor de control) obtenida a partir del regulador del valor de control 19 (etapa S7). Gracias a este control, el controlador de la fuente de nutrientes 15b añade las fuentes de nutrientes (por ejemplo, la glucosa y la glutamina) desde la segunda fuente de suministro 35b al fluido de cultivo en el

procesador 10. De esta manera, el controlador de la fuente de nutrientes 15b controla el valor de la concentración de las fuentes de nutrientes que existen en el fluido de cultivo en el procesador 10.

Como en el caso del controlador aditivo 15a, hay tres casos con respecto al controlador de la fuente de nutrientes 15b. Un primer caso es un caso en el que el valor detectado por el sensor 11 o el valor calculado por la calculadora 12, es menor que el valor de control predeterminado de la concentración [un valor de control predeterminado (valor diana) que es un parámetro físico y químico del fluido de cultivo en el procesador 10]. Un segundo caso es un caso en el que se usa el valor previsto, el cual es calculado por el simulador 17. Un tercer caso es un caso en el que la señal del cambio de estado celular se introduce desde el extractor 14. En cualquiera de estos casos, como en el caso en el controlador aditivo 15a, el valor de control se establece de modo que el controlador de la fuente de nutrientes 15b pueda efectuar su función.

Una operación del sistema de control de cultivo celular se describirá a continuación.

<Caso de ácido láctico>

En un caso en el que las células crecen en el fluido de cultivo en el procesador 10, (en otras palabras, en un caso en el que se incrementa la densidad celular), el ácido láctico se incrementa. De acuerdo con el incremento del ácido láctico, el valor que se emite desde el sensor 11 se incrementa, los datos de series temporales almacenados en la memoria 13 se incrementan. La tasa de producción específica del ácido láctico calculada por la calculadora 12 es un valor positivo. Debido a que la inclinación de los datos de series temporales no cambia, el extractor 14 no emite el punto característico de los datos de series temporales al regulador del valor de control 19. Como resultado, el regulador del valor de control 19 mantiene el primer valor de control. Por lo tanto, el controlador aditivo 15a funciona de acuerdo con el primer valor de control (FIG. 6, FIG. 8 y FIG. 9).

Cuando el ácido láctico disminuye, después de que el ácido láctico se había incrementado, el valor de salida del sensor 11 disminuye. Debido a que los datos de series temporales almacenados en la memoria 13 disminuyen de acuerdo con la disminución del valor de salida del sensor 11, la tasa de producción específica del ácido láctico es un valor negativo. Por lo tanto, el extractor 14 determina el momento en que el signo de los datos de series temporales cambia, como el punto característico (el punto de pico o el punto de cambio). El regulador del valor de control 19 cambia desde el primer valor de control al segundo valor de control. Por lo tanto, el controlador aditivo 15a cambia desde una operación basada en el primer valor de control a una operación basada en el segundo valor de control.

<Caso del amoníaco>

Como en el caso del ácido láctico, en un caso en el que las células crecen en el fluido de cultivo en el procesador 10, (en otras palabras, en un caso en el que aumenta la densidad celular), el amoníaco aumenta. De acuerdo con el aumento del amoníaco, el valor que se emite desde el sensor 11 aumenta, y los datos de series temporales almacenados en la memoria 13 aumenta. La tasa de producción específica del amoníaco calculada por la calculadora 12 es un valor positivo. Debido a que la inclinación de los datos de series temporales no cambia, el extractor 14 no emite el punto característico de los datos de series temporales al regulador del valor de control 19. Como resultado, el regulador del valor de control 19 mantiene el primer valor de control. Por lo tanto, el controlador de la fuente de nutrientes 15b funciona de acuerdo con el primer valor de control (FIG. 6, FIG. 8 y FIG. 9).

Cuando los datos de series temporales de la concentración de amoníaco cambian, también cambia el valor de salida del sensor 11. De acuerdo con el cambio, los datos de series temporales almacenados en la memoria 13 cambian. El extractor 14 extrae el momento en el que el signo de los cambios de los datos de series temporales cambia, como punto característico (el punto de pico o el punto de cambio). El punto característico extraído por el extractor 14 es un punto de cambio de una tendencia del valor de concentración del amoníaco. El regulador del valor de control 19 pasa desde el primer valor de control al segundo valor de control. Por lo tanto, el controlador de la fuente de nutrientes 15b cambia desde una operación basada en el primer valor de control a una operación basada en el segundo valor de control.

En cualquiera de los casos del ácido láctico y del amoníaco, un operador revisa el monitor 8 y cambia el valor de control mediante el uso de la unidad de entrada B. En un caso en el que la densidad celular o la tasa de supervivencia excede a un intervalo predeterminado, el operador emite un nuevo valor de control. Aunque se describe que el operador cambia el valor de control, esto no es una restricción. Por ejemplo, el sistema de control de cultivo celular 1 se puede establecer de modo que en lugar del operador, un ordenador cambia el valor de control e introduce un nuevo valor de control basado en una norma predeterminada.

Las palabras clave de acuerdo con la presente realización se describirán a continuación.

<Estado celular y cambio del mismo>

El "estado celular" en la presente realización es una tasa de crecimiento por célula y un estado de metabolismo energético (por ejemplo, la tasa de crecimiento específico, la tasa de consumo específico de los componentes nutrientes y la tasa de producción específica de la sustancia metabólica), y un parámetro representado por un

factor biótico que indica la productividad de una proteína diana y su proporción. En general, las tasas específicas y los parámetros se detectan una o dos veces al día mediante un análisis fuera de línea, y se calculan aproximadamente mediante el uso de un enfoque integral o similar.

5 Por esa razón, la cantidad de datos es poca. El valor calculado se obtiene como un valor pasado que se promedia de cada medio día a cada día. Aunque es probable que el valor de concentración de la sustancia metabólica aumente en el fluido de cultivo, en general, por ejemplo, el ácido láctico cambia desde un estado de ser producido a un estado de ser consumido, de acuerdo con el estado celular (estado metabólico). Por ejemplo, la información se describe en Woo Suk Ahn, Maciek R. Antoniewicz, *Metabolic Engineering* 13 (2001): 598-609, Wei Shou Hu, "CELL CULTURE BIOPROCESS ENGINEERING": 236 (libro), y así sucesivamente.

10 <Añadir el agente de alimentación>

Generalmente, se añaden los agentes de alimentación y los agentes potenciadores del aumento se añaden con el fin de reponer la fuente de nutrientes de la cual se carece mientras que se realiza el cultivo, para añadir componentes para incrementar la tasa de crecimiento y la productividad, y reducir el material de desecho acumulado. Sin embargo, el momento de la adición de los agentes de alimentación y los agentes potenciadores del aumento no se determina. En general, un usuario mezcla un agente de alimentación simple o múltiple en el fluido de cultivo, y el usuario determina el momento de la adición calculando un estado de acuerdo con un indicador, tal como un tiempo de cultivo (número de días) y el número de células.

20 Con el fin de mejorar la productividad, es deseable que la energía se utilice para incrementar las células tanto como sea posible en una fase de crecimiento, y la energía se utilice para producir los productos deseados en una fase de producción o posteriormente. Por esa razón, una concentración apropiada de los componentes del medio de cultivo en la fase de crecimiento es diferente de una concentración apropiada de los componentes del medio de cultivo en la fase de producción o posteriormente, y se añaden los componentes mientras que se realiza el cultivo. Sin embargo, debido a que el cultivo celular tiene una variabilidad inducida biológicamente, las situaciones de crecimiento celular (variaciones por desfase del estado de las células) entre los lotes no son siempre las mismas. Por lo tanto, si el momento de la alimentación se determina de acuerdo con el tiempo de cultivo y la cantidad de células, este es un caso en el que es difícil añadir de acuerdo con el estado celular.

<Presión osmótica>

30 La presión osmótica es un factor importante del entorno. El control de la presión osmótica se puede implementar mediante el control del suministro de la fuente de nutrientes, NaCl y así sucesivamente. Una relación entre la concentración de glucosa y la presión osmótica (detectada por un método de depresión del punto de congelación) en el cultivo por lotes (la glucosa se añade como medida de adición) se muestra en la FIG. 6. Como se muestra en la FIG. 6, la tendencia de la presión osmótica depende aproximadamente de la tendencia de la glucosa, y la presión osmótica se puede controlar con el control de la alimentación. Una presión osmótica temprana en el fluido de cultivo se controla generalmente de manera que se corresponda aproximadamente con una presión osmótica de líquido isotónico (aproximadamente 280 [osmol/Kg]). En el líquido isotónico, la concentración de materiales que no pueden pasar a través de una membrana semipermeable se corresponde con la concentración de líquido en las células. Sin embargo, con la progresión del cultivo, la presión osmótica varía mediante la adición de la solución alcalina y las fuentes de nutrientes, el metabolismo de las células y así sucesivamente. Por ejemplo, los efectos de la presión osmótica sobre el crecimiento de las células y la producción de anticuerpo se describen en Young Kue Han, et al., *Biotechnology Bioengineering*, 2010, 15 de abril; 105(6): 1187-1192, Moon Sue Lee, Gyun Min Lee, *Cytotechnology*, 2001, 36: 61-69, Duan Shen, et al., *Biotechnol. Prog.*, 2010, julio-agosto; 26(4): 1104-15, y así sucesivamente.

<NIRS>

45 La NIRS (espectroscopía del infrarrojo cercano (NIR)) es un método de dispersión de la región de infrarrojo cercano. La NIRS es un método de radiación de rayos infrarrojos y cálculo de los componentes de una diana de detección de acuerdo con un cambio en la absorbancia de cada componente de la longitud de onda. Aunque se utiliza la absorbancia causada por una vibración molecular de los componentes incluidos en la diana de detección, debido a que se observa el sobretono armónico en la NIRS, un espectro de absorción se complica por varios factores.

50 Sin embargo, en comparación con los rayos infrarrojos medios y los rayos infrarrojos lejanos, en un caso de rayos infrarrojos cercanos, debido a que la cantidad de absorción de agua, que es un obstáculo para el análisis, es muy baja, la NIRS es adecuada para medir un fluido tal como el fluido de cultivo. Mediante la creación preliminar de una curva estándar que asocia cada valor de los componentes con la absorbancia, muchos de los componentes se pueden analizar en una sola medición, y es adecuada para medir los componentes de nutrientes y los componentes metabólicos en el fluido de cultivo en la presente realización.

Debido a que las células en el fluido de cultivo dispersan la luz de la región de longitud de onda de la medición, esto contribuye a un cambio de la línea de base del espectro de absorción. Aprovechándose de esto y detectando la relación entre la cantidad de células y el cambio de la línea de base, se puede hacer un recuento de la cantidad

5 de células de forma simultánea. Además, aprovechándose de la región de absorción de agua en el espectro, se puede medir la presión osmótica que es uno de los factores importantes del entorno en el cultivo. La presión osmótica es proporcional a la concentración en moles de las sustancias disueltas. En caso de que una cantidad de las sustancias disueltas cambie, una proporción de agua en el área de la medición a través de la cual pasa la luz, es probable que cambie, y un valor pico en la región de la absorción es probable que cambie. Por ejemplo, en caso de que la cantidad de las sustancias disueltas se incremente, la proporción de agua en el área de la medición disminuye y el valor pico en la región de la absorción disminuye.

10 Aunque se han descrito e ilustrado anteriormente las realizaciones preferidas de la invención, debe entenderse que estas son a modo de ejemplo de la invención y no han de ser consideradas como limitativas. Se pueden realizar adiciones, omisiones, sustituciones y otras modificaciones sin apartarse del alcance de la presente invención. Por consiguiente, la invención no ha de ser considerada que está limitada por la descripción anterior, y solo está limitada por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

15 Tal y como se emplea en el presente documento, los siguientes términos direccionales "hacia adelante, hacia atrás, hacia arriba, hacia abajo, derecha, izquierda, vertical, horizontal, debajo, transversal, fila y columna", así como cualquier otro término direccional similar, se refieren a las direcciones de un aparato equipado con la presente invención. Por tanto, estos términos, tal como se utilizan para describir la presente invención deben ser interpretados con relación a un aparato equipado con la presente invención.

El término "configurado" se utiliza para describir un componente, una unidad o una parte de un dispositivo que incluye el soporte físico y/o lógico que está construido y/o programado para llevar a cabo la función deseada.

20 Por otra parte, los términos que se expresan como "medios-más función" en las reivindicaciones deben incluir cualquier estructura que se puede utilizar para llevar a cabo la función de esa parte de la presente invención.

El término "unidad" se utiliza para describir un componente, una unidad o una parte de un soporte físico y/o lógico que está construido y/o programado para llevar a cabo la función deseada. Ejemplos típicos del soporte físico pueden incluir, pero no se limitan a, un dispositivo y un circuito.

25

**REIVINDICACIONES**

1. Un sistema de control de cultivo celular (1) que comprende:
- un controlador (15) configurado para controlar parámetros de un fluido de cultivo que existe en un procesador (10) de acuerdo con un valor de control que se establece preliminarmente;
- 5 un sensor (11) configurado para detectar una densidad celular, un valor de concentración de sustancias metabólicas y un valor de concentración de fuentes de nutrientes en el fluido de cultivo que existe en el procesador (10) empleando espectroscopía de infrarrojo cercano;
- una calculadora (12) configurada para calcular una tasa específica de la densidad celular, una tasa específica del valor de concentración de las sustancias metabólicas y una tasa específica del valor de concentración de las fuentes de nutrientes basándose en la densidad celular, el valor de concentración de las sustancias metabólicas y el valor de concentración de las fuentes de nutrientes detectados por el sensor (11);
- 10 un generador (13a) configurado para generar datos de series temporales de acuerdo con las tasas específicas calculadas por la calculadora (12);
- un extractor (14) que comprende un simulador (17) configurado para calcular un valor previsto de los datos de series temporales, estando configurado el extractor (14) para extraer un punto característico de los datos de series temporales o un punto característico del valor previsto; y
- 15 un regulador del valor de control (19) configurado para cambiar el valor de control de acuerdo con el punto característico extraído por el extractor (14),
- en donde el regulador del valor de control (19) está configurado para determinar una cantidad que se añade de aditivos en un momento en el que el extractor (14) emite el punto característico, y
- 20 en donde el controlador (15) está configurado para hacer que una unidad del control (25), que está dispuesta entre una fuente de suministro de los aditivos y el procesador (10), efectúe una operación de suministro y una operación de bloqueo de acuerdo con la cantidad que se añade de los aditivos determinada por el regulador del valor de control (19).
- 25 2. El sistema de control de cultivo celular según la reivindicación 1, en el que
- el sensor (11) está configurado para detectar un valor de concentración de ácido láctico en el fluido de cultivo,
- la calculadora (12) está configurada para calcular una tasa de producción específica del ácido láctico de acuerdo con el valor de concentración del ácido láctico detectado por el sensor (11),
- 30 el extractor (14) está configurado para emitir un punto de cambio, en el que un signo de la tasa de producción específica del ácido láctico cambia desde positivo a negativo, como punto característico, y
- la unidad de control (25) está configurada para añadir agentes de alimentación o agentes que potencian el aumento en el fluido de cultivo como aditivos de acuerdo con el valor emitido desde el extractor.
3. El sistema de control de cultivo celular según la reivindicación 1, en el que
- el sensor (11) está configurado para detectar un valor de concentración de amoníaco en el fluido de cultivo,
- 35 el extractor (14) está configurado para emitir un punto de cambio de una tendencia del valor de concentración del amoníaco detectado por el sensor como punto característico, y
- la unidad de control (25) está configurada para añadir agentes de alimentación o agentes que potencian el aumento en el fluido de cultivo como aditivos de acuerdo con el valor emitido desde el extractor.
4. El sistema de control de cultivo celular según la reivindicación 1, en el que
- 40 el regulador del valor de control (19) está configurado para cambiar el valor de control desde un primer valor de control a un segundo valor de control en un momento de emisión de un valor desde el extractor (14), y
- el controlador (15) está configurado para hacer que la unidad de control (25), que está dispuesta entre una fuente de suministro de los aditivos y el procesador (10), efectúe una operación de suministro y una operación de bloqueo de acuerdo con el segundo valor de control conmutado por el regulador del valor de control (19).
- 45 5. El sistema de control de cultivo celular según la reivindicación 4, en el que
- el valor de control se corresponde con el valor de concentración de las fuentes de nutrientes detectado por el sensor, y

la unidad de control (25) está configurada para añadir las fuentes de nutrientes en el fluido de cultivo de acuerdo con el valor emitido desde el extractor (19), y hacer que el valor de concentración de las fuentes de nutrientes se corresponda con el segundo valor de control.

6. El sistema de control de cultivo celular según la reivindicación 4, en el que

5 el sensor (11) está configurado para detectar un valor de pH del fluido de cultivo que existe en el procesador (10),

el valor de control se corresponde con el valor de pH del fluido de cultivo detectado por el sensor (11), y

10 la unidad de control (25) está configurada para añadir material que ajusta el pH en el fluido de cultivo de acuerdo con el valor emitido desde el extractor (19), y hacer que el valor del pH en el fluido de cultivo se corresponda con el segundo valor de control.

7. El sistema de control de cultivo celular según la reivindicación 6, en el que

en caso de que el valor del pH detectado por el sensor (11) sea inferior al segundo valor de control, la unidad de control (25) añade solución alcalina como material de ajuste del pH, en el fluido de cultivo,

15 en caso de que el valor del pH detectado por el sensor (11) sea superior al segundo valor de control, la unidad de control (25) añade gas CO<sub>2</sub> como material de ajuste del pH en el fluido de cultivo.

8. El sistema de control de cultivo celular según la reivindicación 4, en el que

el sensor (11) está configurado para detectar un valor de la presión osmótica del fluido de cultivo que existe en el procesador (10),

20 el valor de control se corresponde con el valor de la presión osmótica del fluido de cultivo detectado por el sensor (11), y

la unidad de control (25) está configurada para añadir material que ajusta la presión osmótica en el fluido de cultivo de acuerdo con el valor emitido desde el extractor (19), y hacer que el valor de la presión osmótica del fluido de cultivo se corresponda con el segundo valor de control.

9. El sistema de control de cultivo celular según la reivindicación 8, en el que

25 en caso de que el segundo valor de control sea menor que el valor de la presión osmótica del fluido de cultivo detectado por el sensor (11), la unidad de control (25) añade cloruro de sodio como material que ajusta la presión osmótica en el fluido de cultivo.

10. El sistema de control de cultivo celular según la reivindicación 4, en el que

30 el sensor (11) está configurado para detectar un valor de temperatura del fluido de cultivo que existe en el procesador (10),

el valor de control se corresponde con el valor de la temperatura del fluido de cultivo detectado por el sensor (11), y

35 la unidad de control (25) está configurada para controlar un regulador de la temperatura de acuerdo con el valor emitido desde el extractor (14), y hacer que el valor de la temperatura del fluido de cultivo se corresponda con el segundo valor de control.

11. El sistema de control de cultivo celular según la reivindicación 4, en el que

el sensor (11) está configurado para detectar un valor de la concentración de oxígeno disuelto del fluido del cultivo que existe en el procesador (10),

40 el valor de control se corresponde con el valor de la concentración del oxígeno disuelto del fluido del cultivo detectado por el sensor (11), y

la unidad de control (25) está configurada para controlar un regulador del flujo de gases de acuerdo con el valor emitido desde el extractor (14), y hacer que el valor de la concentración del oxígeno disuelto del fluido de cultivo se corresponda con el segundo valor de control.

12. Un método de control de cultivo celular que comprende:

45 controlar, mediante un controlador (15), parámetros de un fluido de cultivo que existe en un procesador (10) de acuerdo con un valor de control que se establece preliminarmente;

- detectar, mediante un sensor (11), una densidad celular, un valor de concentración de sustancias metabólicas y un valor de concentración de fuentes de nutrientes en el fluido de cultivo que existe en el procesador (10) empleando espectroscopía de infrarrojo cercano;
- 5 calcular, mediante una calculadora (12), una tasa específica de la densidad celular, una tasa específica del valor de concentración de las sustancias metabólicas y una tasa específica del valor de concentración de las fuentes de nutrientes basándose en la densidad celular, el valor de concentración de las sustancias metabólicas y el valor de concentración de las fuentes de nutrientes detectados por el sensor (11);
- generar, mediante un generador (13a), datos de series temporales de acuerdo con las tasas específicas calculadas por la calculadora (12);
- 10 calcular, mediante un simulador (17), un valor previsto de los datos de series temporales;
- extraer, mediante un extractor (14), un punto característico de los datos de series temporales o un punto característico del valor previsto; y
- cambiar, mediante un regulador del valor de control (19), el valor de control de acuerdo con el punto característico extraído por el extractor (14);
- 15 determinar, mediante el regulador del valor de control (19), y añadir una cantidad de aditivos en un momento en el que el extractor (14) emite el punto característico; y
- hacer, mediante el controlador (15), que una unidad de control (25), que está dispuesta entre una fuente de suministro de los aditivos y el procesador (10), efectúe una operación de suministro y una operación de bloqueo de acuerdo con la cantidad que se añade de los aditivos determinada por el regulador del valor de control (19).
- 20 13. Un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio que almacena uno o varios programas configurados para la ejecución a través de un ordenador, en donde uno o varios programas comprenden instrucciones para:
- controlar, mediante un controlador (15), parámetros de un fluido de cultivo que existe en un procesador (10) de acuerdo con un valor de control que se establece preliminarmente;
- 25 detectar, mediante un sensor (11), una densidad celular, un valor de concentración de sustancias metabólicas y un valor de concentración de fuentes de nutrientes en el fluido de cultivo que existe en el procesador (10) empleando espectroscopía de infrarrojo cercano;
- 30 calcular, mediante una calculadora (12), una tasa específica de la densidad celular, una tasa específica del valor de concentración de las sustancias metabólicas y una tasa específica del valor de concentración de las fuentes de nutrientes basándose en la densidad celular, el valor de concentración de las sustancias metabólicas y el valor de concentración de las fuentes de nutrientes detectados por el sensor (11);
- generar, mediante un generador (13a), datos de series temporales de acuerdo con las tasas específicas calculadas por la calculadora (12);
- calcular, mediante un simulador (17), un valor previsto de los datos de series temporales;
- 35 extraer, mediante un extractor (14), un punto característico de los datos de series temporales generados por el generador; y
- cambiar, mediante un regulador del valor de control (19), el valor de control de acuerdo con el punto característico extraído por el extractor (14);
- 40 determinar, mediante el regulador del valor de control (19), y añadir una cantidad de aditivos en un momento en el que el extractor (14) emite el punto característico; y
- hacer, mediante el controlador (15), que una unidad de control (25), que está dispuesta entre una fuente de suministro de los aditivos y el procesador (10), efectúe una operación de suministro y una operación de bloqueo de acuerdo con la cantidad que se añade de los aditivos determinada por el regulador del valor de control (19).

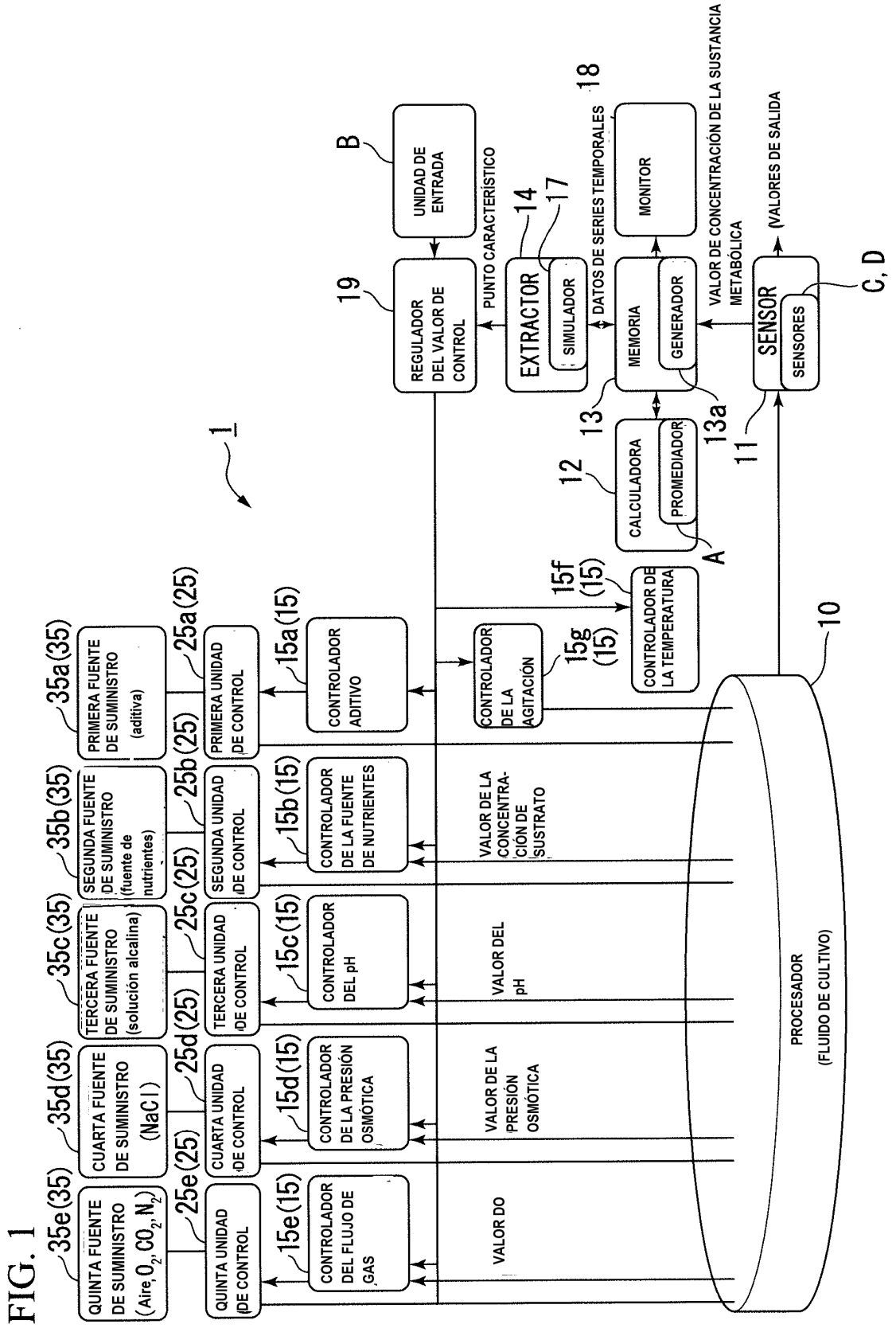




FIG. 2

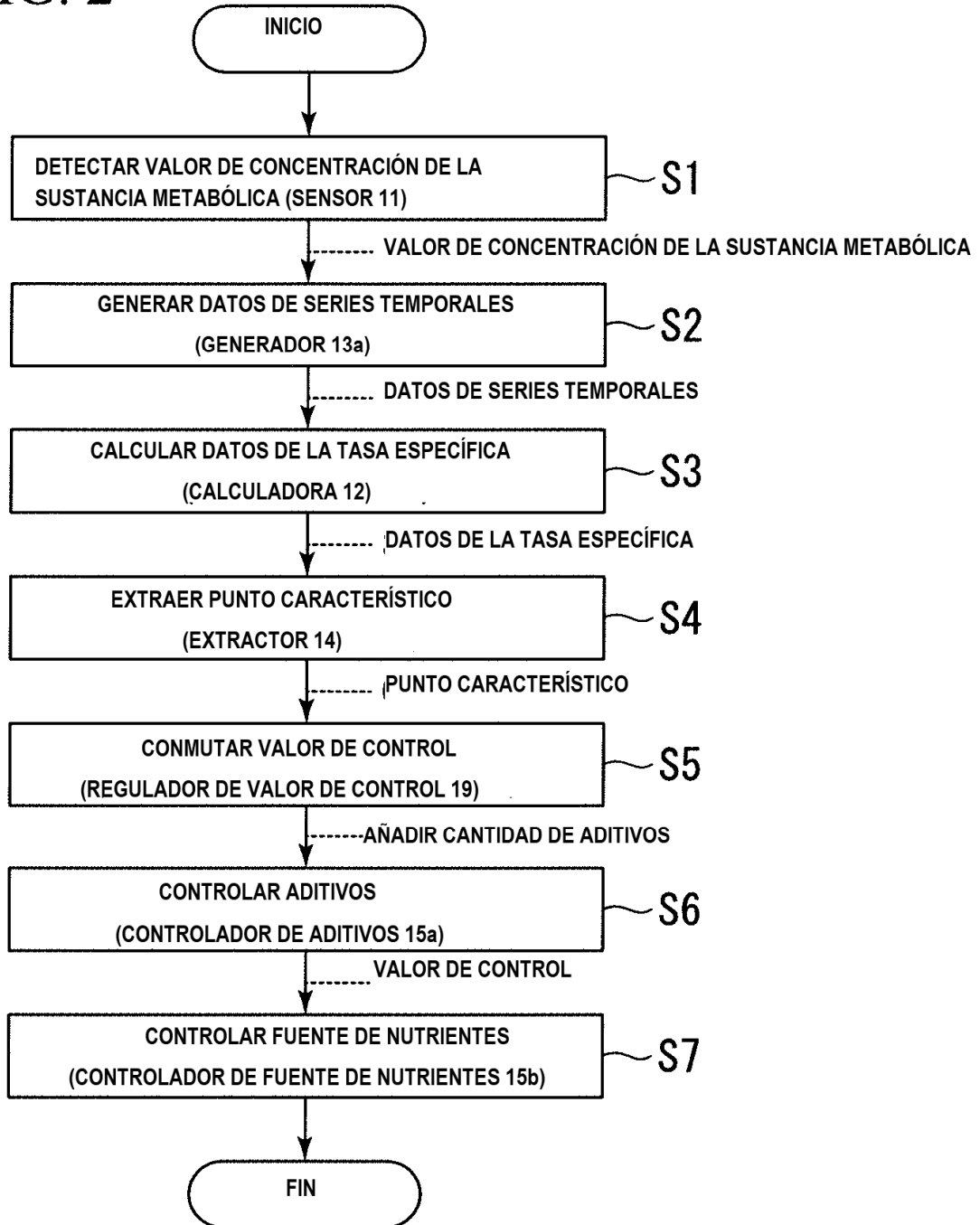


FIG. 3

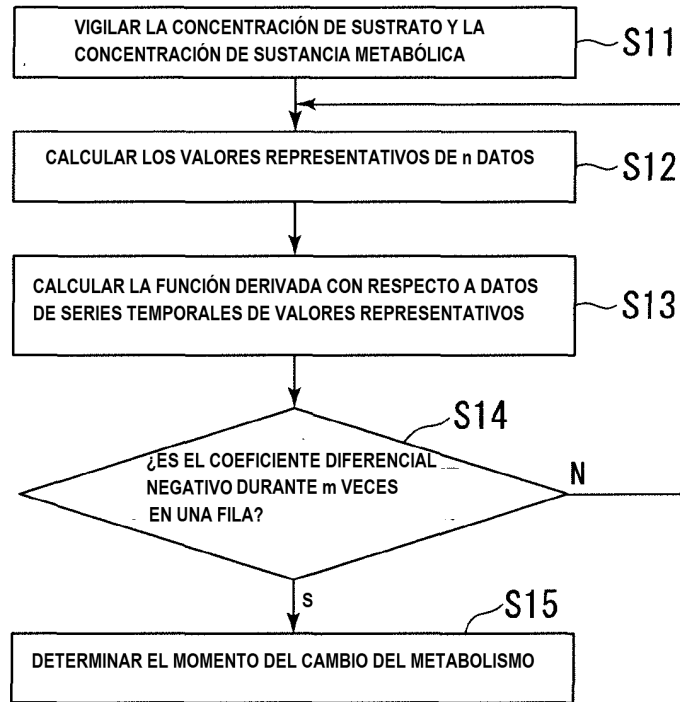


FIG. 4

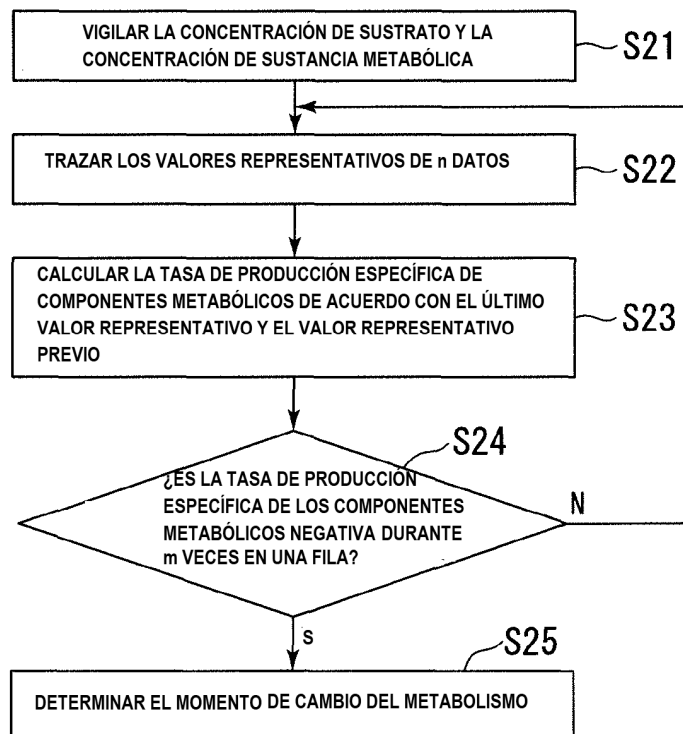


FIG. 5

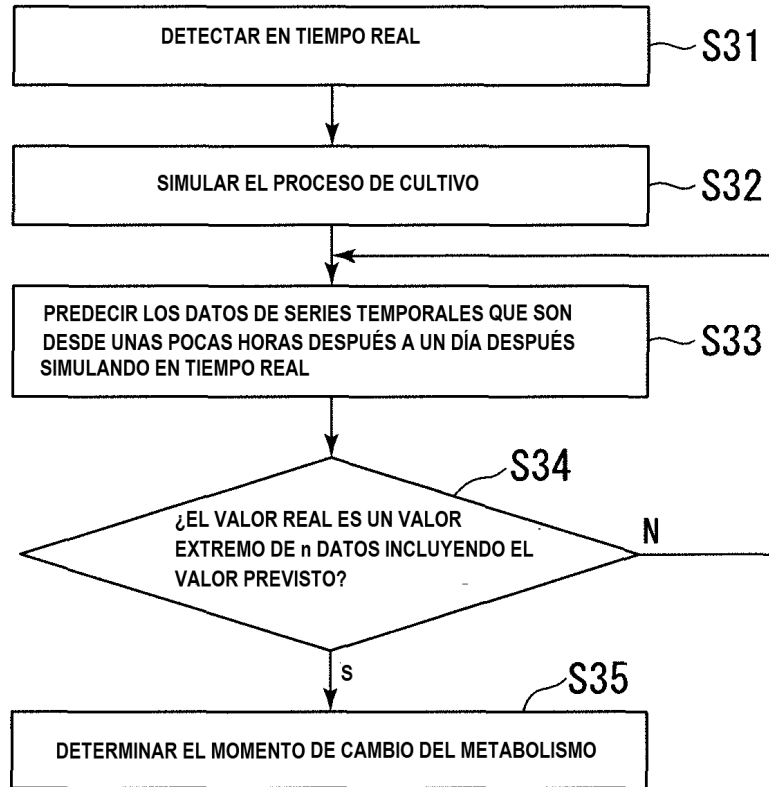


FIG. 6

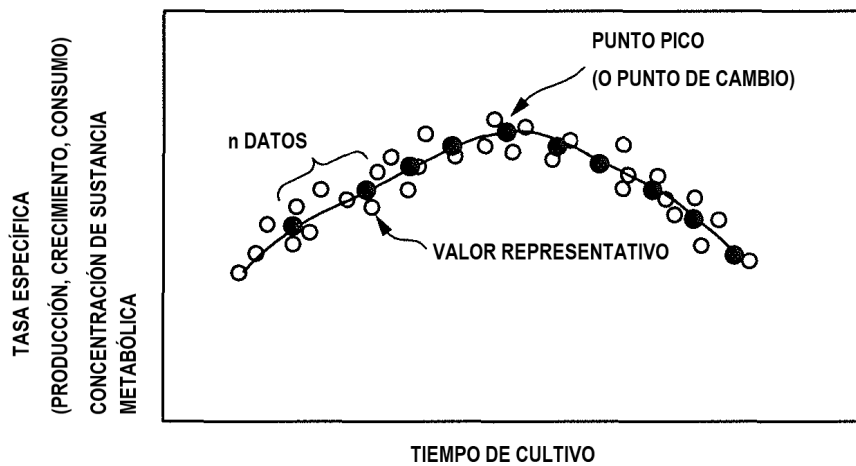


FIG. 7

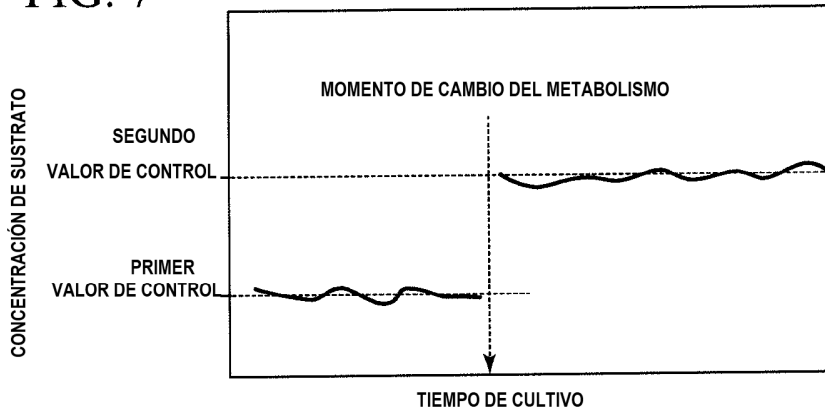


FIG. 8

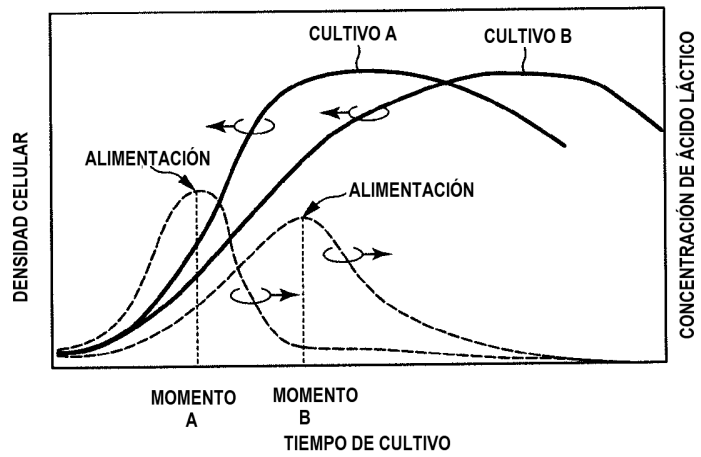


FIG. 9

