

利用 Aber Optura Spy 非接触式生物光反射技术实现波浪式生物反应器的在线生物量监测

在单次使用波浪式（摇摆式）生物反应器（Wave 反应器）中，实时监控关键工艺参数（CPP）对于实现高质量的工艺扩增和复杂工艺（如灌流培养）的稳定运行至关重要。长期以来，该平台缺乏一种可靠、低成本且易于集成的在线总生物量监测手段。本文阐述了 Aber Instruments 开发的 Optura Spy 系统，这是一种基于生物光反射原理的创新非接触式在线总生物量监测解决方案。该系统通过贴壁式适配器在反应袋外侧进行无损测量，解决了传统插入式探头不适用以及一次性接触式传感器需辐照灭菌带来的物流和成本挑战。通过对批次培养的案例分析，展示了 Optura Spy 在实时捕捉工艺趋势的应用能力，同时也揭示了 Optura Spy 其他潜在应用可能。

1. Wave 反应器在线生物量监测的技术挑战

随着一次性技术（SUT）在种子扩增（Seed Train）和临床规模生产中的普及，摇摆式生物反应器（Wave Bioreactors）因其温和的混合机制和剪切力低等优势，成为单次使用平台的重要组成部分。然而，要在 Wave 反应器中实现对总生物量或活细胞密度（VCD）的实时在线监测，一直存在巨大的技术鸿沟，导致工程师只能依赖滞后且增加染菌风险的离线取样检测。

导致这一局限性的核心原因在于：

- **插入式（Invasive）传感器的不适用性：** 传统的介电光谱或光密度探头通常为刚性插入式设计。在 Wave 反应器中，反应袋的机械摇摆运动会产生机械应力，增加漏液或袋体损坏的风险；此外，刚性探头在袋内的定位和稳定性也难以保证。
- **一次性接触式（Disposable Contact）传感器的不便利性与高成本：** 虽然市场上存在一次性接触式生物量传感器（例如 Sartorius 的 BioPAT 类产品），但其设计通常要求传感器本体（电极部分）预先集成到一次性培养袋中，并与袋子一起进行整体辐照灭菌（Gamma Irradiation）。
 - **不便利性：** 这严重限制了最终用户采购反应袋的灵活性，要求袋子供应商具备预集成传感器技术的资质。
 - **高成本：** 预集成导致单个反应袋的采购成本大幅上升，增加了运营支出（OPEX）。
 - **失败风险：** 传感器的集成对反应袋带来了额外的失效风险。

鉴于此，Aber 开发了非接触式、贴壁式 Optura Spy 系统，旨在提供一种非入侵式、对用户和袋子供应友好的在线生物量监测新工具。



2. 技术原理解析：非接触式生物光反射技术

Optura Spy 的核心技术是 Aber Instruments 创新的近红外（NIR）波段光反射技术，专为解决非接触式在线测量而设计（如图 1）。其核心机理如下：

- **NIR 光的发射与相互作用：** 系统的光学传感器头（Optura Sensor）在反应袋外侧发射特定近红外波段的光。近红外光具有较强的穿透力，能够穿过透明或半透明的反应袋壁。
- **散射与反射：** 发射出的近红外光穿过袋壁进入培养液中，会与其中的悬浮细胞发生相互作用。大部分光子会被细胞表面和内部结构所散射（Scattering）。
- **反射信号的测量：** 传感器内的探测器检测从培养液中反射（后向散射）回传感器的光子强度。
- **生物质相关性：** 培养液中悬浮细胞的浓度越高，光散射的强度就越强，反射回传感器的信号强度也会相应变化。这种近红外反射信号强度与总细胞密度（Total Cell Density, TCD）或总生物量具有极高的相关性。在批次培养初期，它也能与活细胞密度（VCD）保持良好的一致性。
- **近红外波段的选择：** 确保从初始接种到高密度的全程高灵敏度监测；该波段不仅能有效规避培养基颜色成分的光吸收干扰，还通过实现 2.5 cm 的精准窄测量场，在保证读数代表性的同时，消除了短波长常见的背景环境反射干扰，从而实现了极高的测量精度和广泛的应用普适性。

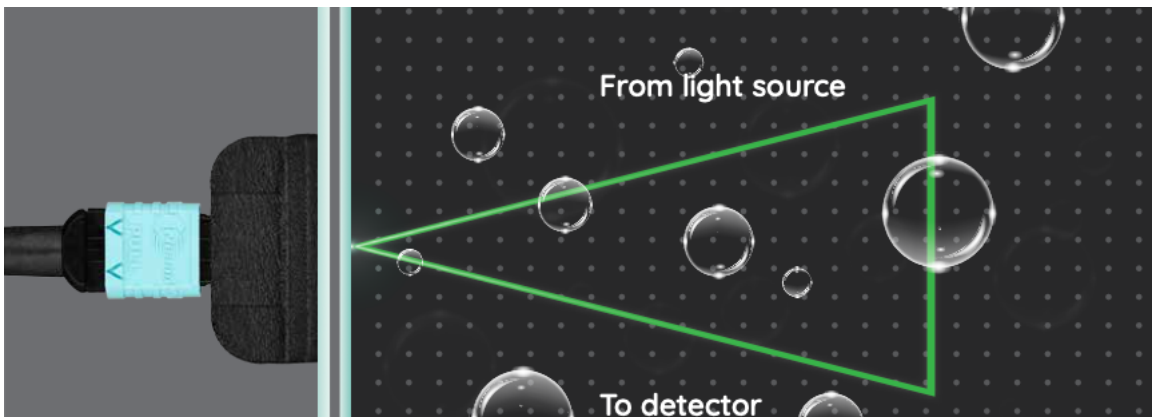


图 1 Optura Spy 所采用的生物光反射技术的原理

3. 将 Optura Spy 系统安装在一次性 Wave 生物反应器上

- 反应器系统：Cytiva WAVE™ 25 一次性生物反应器。
- 安装步骤：
 1. **适配器集成：** 将 Aber 提供的适配器手动贴合到指定位置。适配器必须贴合正对着培养液的位置，且在摇摆过程中，确保其测量窗口（向内 2.5cm 区域）完全处于液面以下（参考图 1）。

2. **传感器连接：** 在进行接种和培养基充入后，将 **Optura Sensor**（非入侵探头）卡入袋子外部的适配器。
3. **数据采集：** 将传感器通过电缆连接到 **Optura Spy Hub**。**Optura Spy Hub** 负责信号处理、频率扫描和数据实时采集，并通过 PC 上已安装的 **OpturaView** 软件实时连续地采集与显示生物量曲线图。

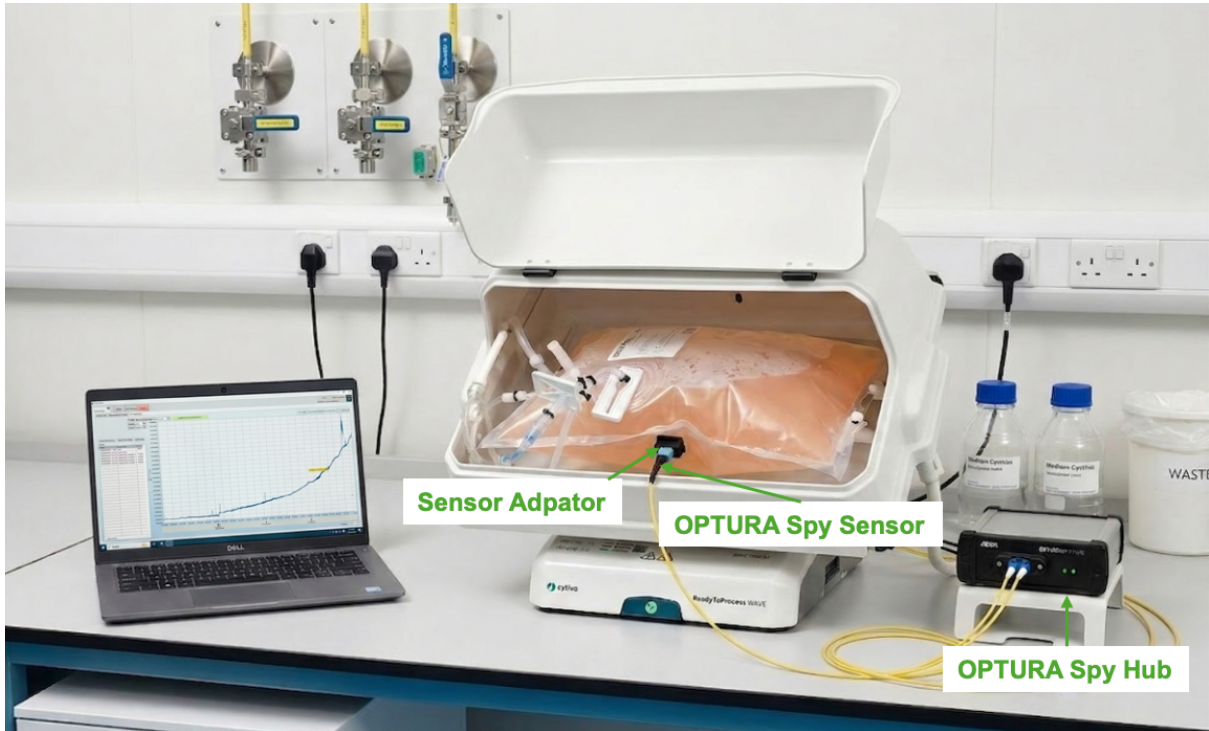


图 2 将 Optura Spy 系统安装在一次性 Wave 生物反应器上

4. 结果与讨论：批次培养（Batch）案例分析

本研究在 Cytiva WAVE™ 25 波浪式生物反应器中进行了一次典型的 CHO 细胞批次培养（Batch Culture），旨在验证 Optura Spy 非接触式在线生物量监测系统在标准 PD（工艺开发）和种子扩增场景下的性能。通过将 Optura Spy 采集的反射光功率（单位 nw）与离线取样在 Beckman Vi-CELL™ 检测的活细胞密度 VCD 进行了全培养周期的比对。

- 反射光功率与离线活细胞密度线性关系：在 50×10^6 Cells/mL 范围内展现出良好的线性关系，线性相关度 $R^2 > 0.99$

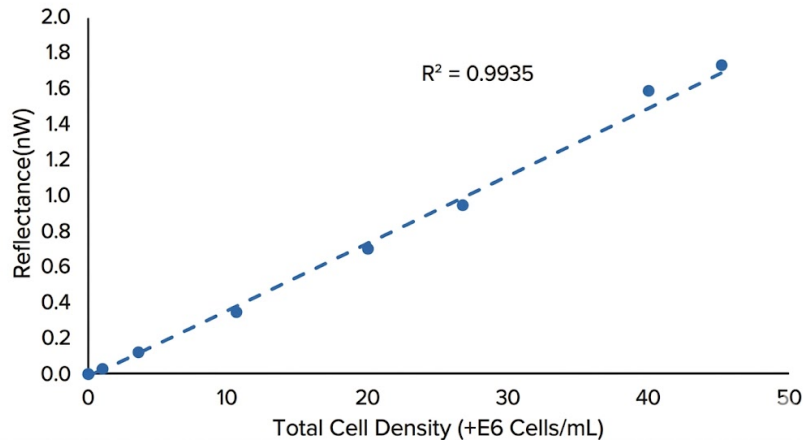


图 3 Optura Spy 反射光功率 (单位 nw) 与离线 Vi-CELL™ 活细胞密度 VCD 的线性关系

- **Optura Spy** 在接种后从延迟期 (Lag Phase) 到指数生长期 (Log Phase) 与离线活细胞计数结果高度相关。这个现象也可以很容易从 **Optura Spy** 所采用的生物光反射的原理上去解释，因为在指数生长期，细胞活率通常都比较高 (>95%)，所以活细胞密度与总细胞密度非常接近。

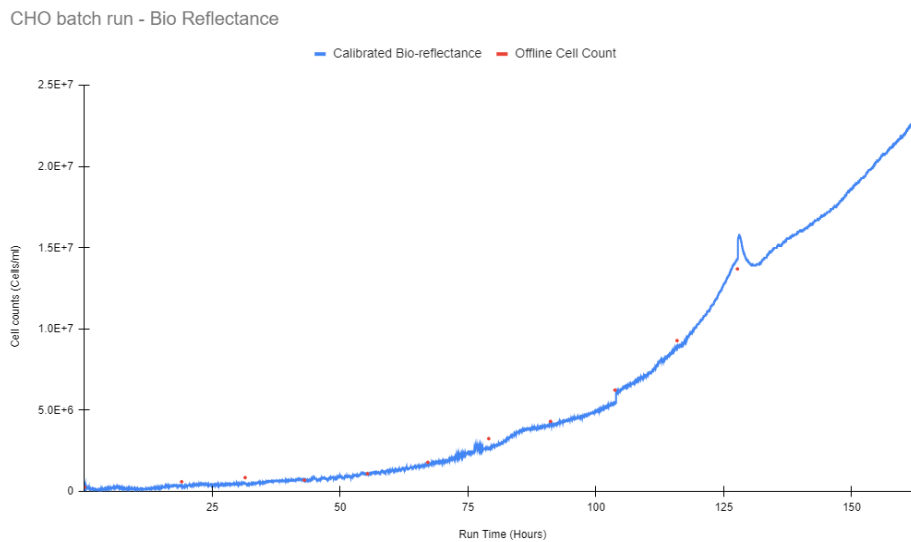


图 4 Optura Spy 批次在线检测曲线与离线活细胞计数

- **延迟期 (Lag Phase) 捕捉:** 在接种后的前 24-48 小时，离线取样由于频次限制 (例如每天 1-2 次)，很难精确描绘延迟期的确切时长。**Optura Spy** 凭借其高灵敏度，在 VCD 低于 0.5×10^6 cells/mL 时即探测到了光功率的微小但连续的上升，为 PD 工程师提供了关于细胞适应状态的即时反馈。



5 结论与展望

本案例展示了 **Optura Spy** 在 CHO 细胞批次培养中作为高效 **PAT** 工具的价值。通过**非接触、无损、在线实时总生物量监测**，**Optura Spy** 不仅提供了高分辨率、连续的生长指纹图谱，同时展现出精确定位最佳转染/感染时间和理想收获点判定方面巨大的潜在应用价值。其无接触测量特性降低了染菌风险，连续的数据流提升了批次间的一致性，为单次使用波浪式反应器平台带来了真正的、数据驱动的工艺过程控制。

对于工艺开发工程师而言，**Optura Spy** 不仅提供了更深刻、更连续的工艺过程趋势数据，还可以实现对补料时间/量、转染/感染时间、收货时间等精细自动化控制，大幅提高了 **Wave** 生物反应器平台的**工艺智能性和稳健性**。