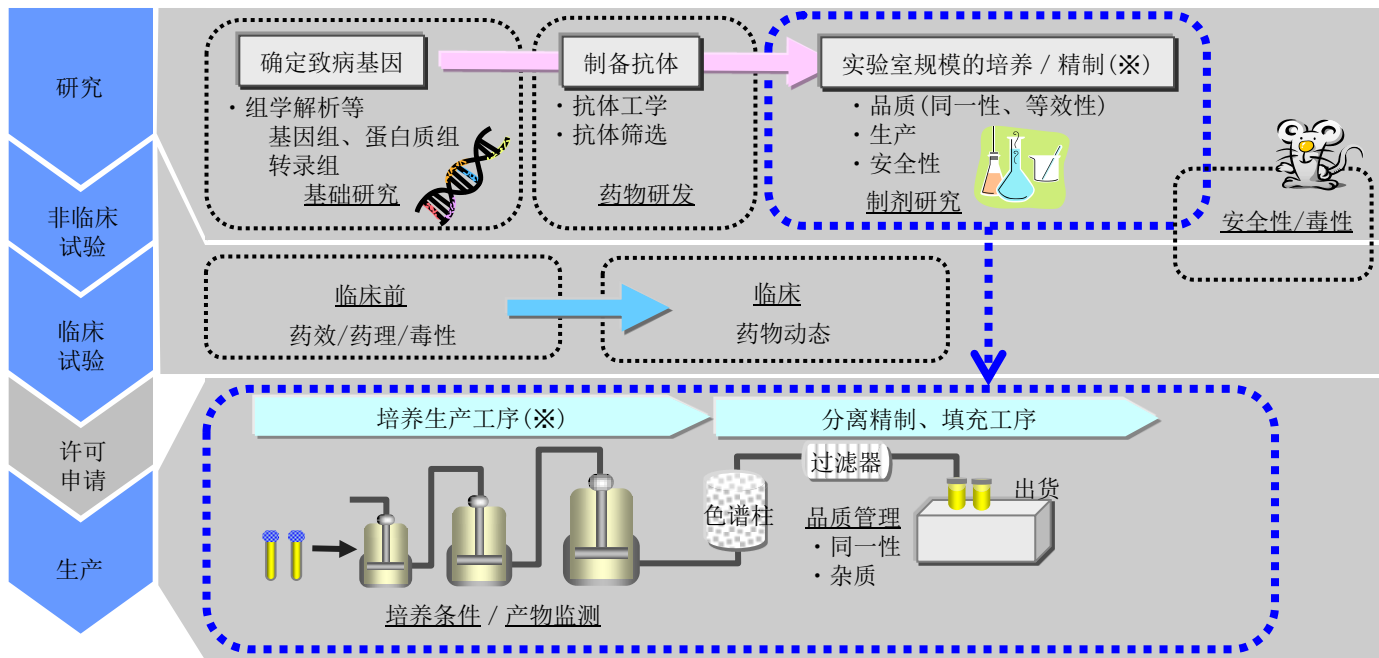


生物药品多为通过细胞培养生产的蛋白质类药物。在蛋白质生产的培养工序中，对溶氧量、PH值、温度等各种工艺参数的监测或控制至关重要。另外培养液中的氨基酸是重要的营养源，因此该监测有助于掌握细胞状态、研讨培养条件、研究最佳培养液组成。此次我们向您介绍使用L-8900全自动氨基酸分析仪，对在不同培养条件下的培养液中的各种氨基酸浓度进行监测的结果。能够进行多成分同步分析并具有卓越的定量精度的氨基酸分析仪，以其高分离度而著称，可为培养工序的研究开发及品质管理提供有价值的信息。

◆生物药品的研发流程◆



(※) 实施培养液氨基酸监测的工序

■氨基酸监测的样品和色谱条件



L-8900全自动氨基酸分析仪

<生理体液分析法色谱条件>

色谱柱	: #2622PF 4.6 mm I.D. × 60 mm	柱温	: 32 ~ 70 °C
保护柱	: #2619F 4.0 mm I.D. × 5 mm	反应液	: Ninhydrin coloring solution kit for HITACHI
脱氨柱	: #2650L 4.6 mm I.D. × 40 mm	反应液流速	: 0.3 mL/min
流动相	: PF Buffer Kit	反应温度	: 135 °C
流速	: 0.35 mL/min	检测波长	: VIS 570 nm、440 nm
		进样量	: 20 µL

<样品>

细胞	: CHO细胞 (CRL-9606)
培养槽	: 1 L
通风	: 仅液面通风 (Air、O ₂ 、N ₂ 、CO ₂ 的混合气体)
培养基	: Ham' sF12 + 10 % FBS

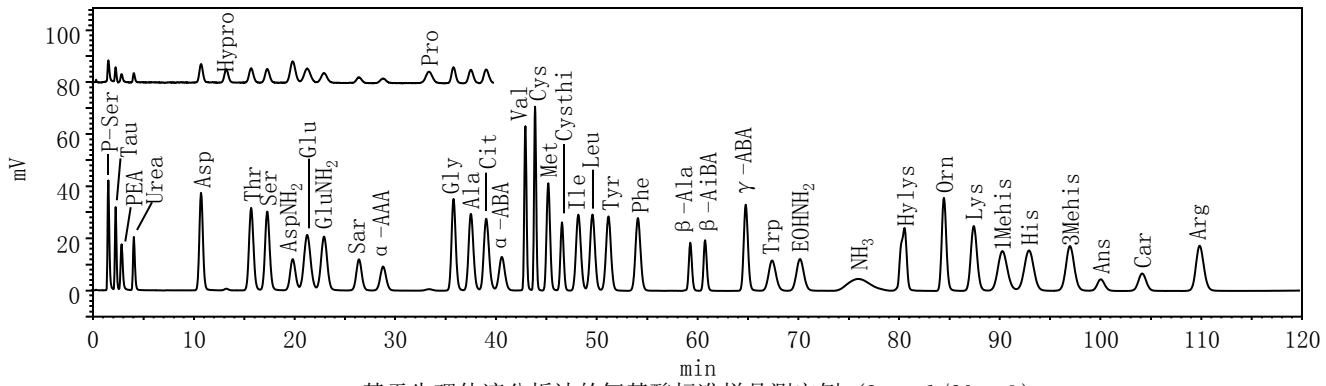
在以下条件的培养过程中，定时采样，进行了分析。

	培养不足1日	培养1日后
培养条件A	标准溶氧浓度	标准溶氧浓度
培养条件B	标准溶氧浓度	低溶氧浓度

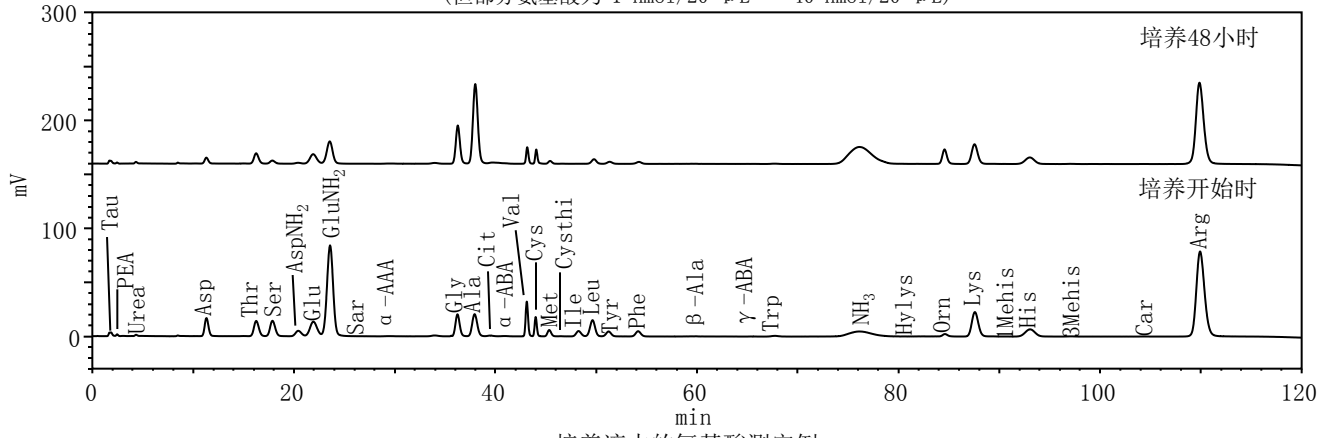
<预处理>

培养液与浓度5%的三氯乙酸溶液以1 : 1混合
 ↓
 离心分离 10,000 rpm、10 min
 ↓
 过滤 Pore Size 0.2 µm
 ↓
 分析用样品

■培养液中的氨基酸测定例

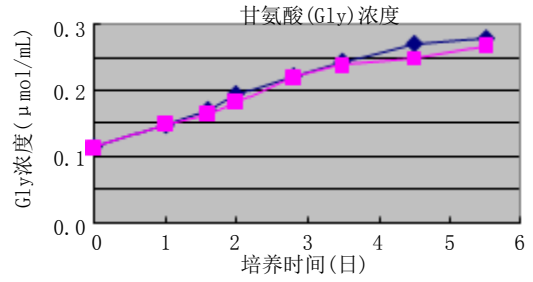
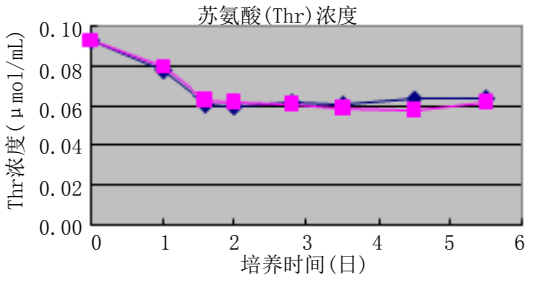
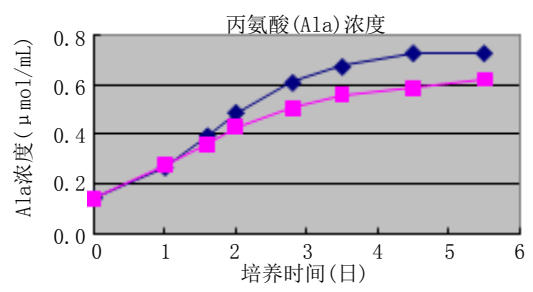
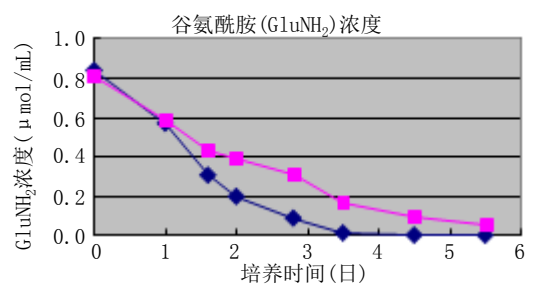


基于生理体液分析法的氨基酸标准样品测定例 (2 nmol/20 μL)
(但部分氨基酸为 1 nmol/20 μL ~ 40 nmol/20 μL)



培养液中的氨基酸测定例

■不同培养条件下氨基酸随时间的变化



• 标准样品的测定中，此次介绍的氨基酸中，Thr、Gly、Ala的峰保留时间的重现性为RSD = 0.05 ~ 0.07 %，峰面积的重现性为RSD = 0.15 ~ 0.19 %，得以确认茚三酮柱后衍生的高度重现性。(均为 n=3) (产品规格如下。峰保留时间的重现性：0.5 % 以内 (Ala)、0.3 % 以内 (Arg)；峰面积的重现性：1.5 % 以内 (Gly、His))

• 通过监测培养液中各种氨基酸的浓度，可获知培养过程中各成分的盈缺，因此有助于探讨最佳培养液组成。另外，基于培养条件的不同，可见氨基酸含量的变化出现差异的成分。可以认为这反映出细胞内的处理过程已发生变化，产生的蛋白质也可能不同，因此培养液中氨基酸的同步监测可作为抗体药物生产领域中生产管理的有效指标之一。

仪器配置：L-8900全自动氨基酸分析仪

注意：本资料所示数据仅为测定例数据而非可保证仪器性能的数据。仪器只是研究用仪器，而不是诊断、治疗或预防人或动物疾病的医疗仪器。