

光学氧传感器在植物细胞培养中的应用

背景介绍

紫杉醇是近几年从天然产物中开发的一种新型抗癌药物，被认为是抗癌制剂中的“新星”。紫杉醇是当今世界公认的广谱、活性最强的抗癌药物，尤其是对子宫癌、卵巢癌、乳腺癌具有特殊疗效，它的问世被誉为 90 年代国际上抗癌药三大成就之一。目前全球紫杉醇类药物的销售额已经超过 50 亿美元，紫杉醇原料主要从树皮中获得，其含量很低，只有 0.01%~0.06%，提取 1kg 紫杉醇需要砍伐 1000~2000 棵树，结果造成生态环境和生物多样性的破坏。目前获得紫杉醇的其它途径有化学合成(半合成)法、植物细胞组织培养法、真菌发酵紫杉醇等。

我公司科伦药业股份有限公司是中国生产大输液领域的龙头企业之一，年产值近 60 亿人民币，目前积极进军生物类原料药领域，原料药板块投资将超过 50 亿人民币，其中紫杉醇细胞培养产业化项目组位于其子公司广东科伦药业有限公司内。广东科伦药业有限公司的紫杉醇项目从 1996 年开始研发，获得专利 16 项，目前正在产业化前的中试阶段，所开发的植物细胞培养法生产紫杉醇效价居国内领先水平，目前是中国采用植物细胞培养法生产紫杉醇最有希望成功的项目之一。

植物细胞培养中的溶解氧

植物细胞培养是在离体条件下，将愈伤组织或者其它易分散的组织置于液体培养基中，进行振荡培养，得到分散成游离的悬浮细胞，通过继代培养使细胞增殖，从而获得大量的细胞群体和初级或次级代谢产物的一种技术。植物细胞培养法获取紫杉醇优点很多：可连续生产产物，不受季节和病虫害等其他因素影响；可进行大规模培养，通过控制培养条件提高产量；产物直接从细胞培养物中提取，成份简单，有利于产物的分离提取等；细胞培养来源紫杉醇成本低，可以根据市场需求情况灵活调整产量。

植物细胞培养过程中，处于不同生长时期的细胞其溶氧需求水平不同，并且培养过程中溶氧情况会随着植物细胞生物量的变化而变化，需要对培养过程中的溶氧进行准确的控制，分别促进植物细胞生长和紫杉醇的合成。尤其在细胞合成紫杉醇阶段，不同浓度的溶解氧对紫杉醇的合成有着明显的影响，通过溶氧控制，使细胞向着有利于紫杉醇积累的代谢方向转化，可以得到大量高含紫杉醇的植物细胞培养物。因植物细胞生长缓慢，生长和生产周期长，培养一个批次从几个星期到几个月，因此植物细胞培养对反应器中的传感器元件要求比较高，我们最终选用了可信任的梅特勒-托利多品牌，光学溶氧传感器 InPro6880i，用在全自控植物细胞反应器的在线检测系统上。

植物细胞培养中的精确在线监控

过去，植物细胞培养时我们选用的是传统的极谱法传感器，该类型的传感器检测前需要极化几小时，传感器和检测液通过溶氧膜有物质交换，溶氧膜易存料和损坏出现泄漏的风险。根据植

物细胞长时间培养的特点，2010 年开始梅特勒-托利多工程师通过和广东科伦药业有限公司工程师的多次联系沟通，建议采用最先进的光学溶氧传感器 InPro 6880i，我们购买了 4 套 InPro 6880i，并与 M400 多参数智能变送器配合使用。我们通过安装使用梅特勒-托利多光学氧 InPro6880i，确保培养过程中溶氧工艺参数的稳定，实现了培养过程中工艺参数的精确控制。因发酵罐培养时间长，对传感器的无菌要求高，通过光学氧传感器的在线监控，既实现了对植物细胞培养过程中溶氧水平的精确控制，确保植物细胞能生长正常，并积累高含量的紫杉醇，更重要的是能够长时间培养植物细胞，不会导致微生物污染，提高生产成功率。

InPro6880i 光学氧系统优点显著: 1.安装和维护方便，传感器可以通过 25mm 标准接口直接插入反应器上，取下数字头部元件就可高温灭菌，而且其数字化技术的使用使维护的次数和时间可以提前预知；2. 检测方便，M400 变送器开机 30 秒即可测得真实溶氧值，无须几小时的极化。不测时可以关机，延长电极和变送器的使用寿命，尤其适合我们植物细胞培养超长期培养的要求；3. 污染和泄漏的风险几乎没有。传感器内无液体，只有光纤，避免了可能的微生物残留污染。

植物细胞培养周期长，我们选用的原则是首先不会因传感器的使用带来微生物的污染；操作方便也是选用的原因。使用了光学溶解氧传感器后，配合其他措施，这一年来在反应器中基本无微生物污染出现，配合空气流量、转速和罐压调整，使我们在溶氧控制上得心应手，大大缩短了植物细胞培养生产紫杉醇研发时间。我们对数字化的光学氧传感器很满意，也希望梅特勒-托利多开发出类似的 pH、电导率、折光率、CO₂ 等光学传感器，适合较长时间的无菌发酵培养各种参数在线检测，让植物细胞培养的在线检测技术再上一个新台阶。我们计划在未来植物细胞培养的扩大生产中继续配套使用 InPro 6880i，未来三年预计购买 10 套以上。

(作者：李干雄)