

Влияние экстремальных концентраций растворенного CO₂ на рост и метаболические характеристики клеток СНО в периодических и непрерывных процессах

© Тюпа^{1*} Дмитрий Валериевич, Морозов^{1*} Антон Николаевич,
Захаров¹ Захар Викторович, Калёнов²⁺ Сергей Владимирович,
Кочелабов¹ Роман Александрович и Емельянов¹ Илья Максимович

¹ *Международный Биотехнологический Центр «Генериум». ул. Владимирская, 14. поселок Вольгинский, 601125. Петушинский район. Владимирская обл. Россия.*

Тел.: (495) 988-47-94. E-mail: Tupa@ibcgenerium.ru

² *Кафедра биотехнологии. Факультет биотехнологии и промышленной экологии Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева. Миусская пл, 9. г. Москва, 125047. Россия.*

Тел.: (495) 495-23-79. E-mail: wseztart@yandex.ru

*Ведущий направление; +Поддерживающий переписку

Ключевые слова: культивирование, клетки СНО, моноклональные антитела, концентрация CO₂, перфузия.

Аннотация

Концентрация растворённого в среде углекислого газа – один из ключевых компонентов систем культивирования клеток млекопитающих. CO₂ необходим для роста и развития клеток, а также для поддержания уровня pH в питательной среде. Неоптимальные концентрации углекислого газа создают серьезную проблему при культивировании клеточных культур, в том числе клеток яичника китайского хомячка (СНО), являющихся основным источником получения рекомбинантных белков терапевтического назначения. Нормальная физиологическая концентрация углекислого газа для большинства клеток млекопитающих составляет 4-8%, что соответствует парциальному давлению углекислого газа (pCO₂) 30-55 мм рт. ст. Отклонения от данного интервала способны замедлять рост клеточных культур, существенно перестраивать их метаболизм, снижать жизнеспособность и продуктивность клеток.

В настоящей работе была проведена оценка влияния экстремальных концентраций растворённого углекислого газа на рост клеток СНО как в периодических, так и в непрерывных процессах. При культивировании клеток в режиме фэд-батч повышение концентрации CO₂ от 5 до 20% существенно ингибирует рост культуры, в то время как ее снижение до 1% изменяет метаболизм клеток, блокируя фазу утилизации лактата. Однако было установлено, что культура клеток чувствительна к CO₂-стрессу только на раннем этапе культивирования и приобретает относительную устойчивость уже в период поздней экспоненциальной фазы роста.

Аналогичные закономерности наблюдали и в непрерывных (перфузионных) процессах, когда на ранних стадиях роста культуры низкие значения pCO₂ (1%) приводили к сильному нарушению метаболизма лактата. В результате наблюдалось интенсивное накопление молочной кислоты в питательной среде, вследствие которого резко снижалась жизнеспособность и продуктивность культуры. В начальный период культивирования, до тех пор пока концентрация клеток еще не настолько высока, чтобы они могли насытить среду аутогенным CO₂, необходимо в первую очередь организовать бесперебойную подачу углекислого газа, не допуская его выдувания из среды, что актуально не только для промышленных, но и для лабораторных реакторов.