Figura 1

Resumen del proceso de cultivo celular

Etapa	Descripción	Controles y analíticos en proceso
Matraz de 250 mL (N-7)	Agregar 1 mL de MCB descongelado en un medio de cultivo (con MTX); agitar durante 3 días a 36ºC/5% de CO_2	Muestra N-7 a N-4 de cada etapa Conteo celular total y viable y % de viabilidad pH, pCO_2, pO_2 Datos del metabolismo: glutamina (Gln), glutamato (Glu), glucosa (Gluc), lactato (Lc), amoníaco (NH_4+), sodio (Na), potasio (K)
Matraz de 500 mL (N-6)	Inocular medio de cultivo con (MTX) a 4 x 10^5 células/mL [total 120 mL]; agitar durante 3 días a 36ºC/5% de CO_2	
Matraz de 1.000 mL (N-5)	Inocular medio de cultivo con (MTX) a 4 x 105 células/mL [total 240 mL]; agitar durante 3 días a 36ºC/5% de CO_2	
Matraces 2 x 2.000 mL (N-4)	Inocular medio de cultivo con (MTX) a 4 x 10^5 células/mL [total 600 mL en cada matraz]; agitar durante 3 días a 36ºC/5% de CO_2	
Bioreactor Wave [bolsa de 50 L] (N-3)	Combinar contenidos de los matraces N-4 en un recipiente de transferencia de 10 L y agregar medio de cultivo (con MTX) hasta un total de 5 L; transferir a la bolsa Wave; agitar con vaivén la bolsa durante 3 días a 36ºC/5% de CO_2	Conteo celular total y viable y % de viabilidad pH, pCO_2, pO_2 Datos del metabolismo: Gln, Glu, Gluc, Lac, NH4+), Na, K; osmolaridad
Bioreactor de 60 L (N-2)	Agregar alimentación por bolo del medio de cultivo (con MTX) a un objetivo de 4 x 10^5 células/mL; Agitar con vaivén la bolsa durante 3 días a 36ºC/5% de CO_2	Muestra N2, N1 de cada etapa Conteo celular total y viable y % de viabilidad pH, pCO_2, pO_2 Datos del metabolismo: Gln, Glu, Gluc, Lac, NH_4+), Na, K; osmolaridad
Bioreactor de 300 L (N-1)	Inocular 45 L del medio de expansión (medio de cultivo sin MTX) con un cultivo de N-3 final para un objetivo de 4 x 10^5 células/mL; agitar durante 3 días a 36ºC/5% de CO_2	
Bioreactor de 2.000 L (N)	Inocular 245 L del medio de expansión (medio de cultivo sin MTX) con un cultivo de N-2 final para un objetivo de 4 x 10^5 células/mL; agitar durante 3 días a 36ºC/5% de CO_2 Inocular 1.100 L de medio de producción ABM025-004 con cultivo final N-1 para un objetivo de 5 x 10^5 células/mL; agitar a 36ºC/5% de CO_2 Alimentaciones de bolo del medio de producción AFM028-001 los días 3, 6 y 8; Bioreactor de 2.000 L completo el día 11	**Concentración STM 434 (HPLC de Proteína A)** Conteo celular total y viable y % de viabilidad pH, pCO_2, pO_2 Datos del metabolismo: Gln, Glu, Gluc, Lac, NH_4+), Na, K; osmolaridad **Q-PCR de Virus diminuto de ratón (MVM)** (día antes de la cosecha) **Micoplasma: ensayo de virus in vitro; biocarga** (día de la cosecha)
Centrifugación de cosecha	Se enfrió el bioreactor de 2.000 L a 10-15ºC; se sometieron los contenidos a centrifugación de pila de discos	
Filtración de cosecha	El resultante se hizo pasar a través de una serie paralela de filtros de 0,2 um de profundidad seguido por un filtro de carga positiva	**Endotoxina bacteriana**
Cosecha de cultivo celular clarificado		