

Lo que se reivindica es:

1. Un método para aumentar la producción de proteína recombinante en una célula huésped procariota, que comprende:

realizar una fermentación de proteína recombinante por lotes alimentados que incluye las etapas de:

realizar la siembra (tiempo S_0) de un cultivo de célula huésped procariota modificada genéticamente para expresar induciblemente una proteína recombinante y transferir el cultivo a uno o más fermentadores que contengan cada uno un medio de cultivo;

medir un nivel de oxígeno disuelto (OD), una velocidad de agitación y un pH en uno o más fermentadores;

suministrar una solución de alimentación de fuente de carbono a cualquiera de uno o más fermentadores, individualmente, siempre que se cumplan las condiciones (i) y/o (ii):

- (i) dicho nivel de OD supera aproximadamente 35% a 45% y dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 300 a 1000 rpm.
- (ii) dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 400 a 700 rpm y dicho pH supera aproximadamente 7,0 a 7,4; y

suministrar una fuente de nitrógeno a cualquiera de los uno o más fermentadores en los que se haya iniciado la inducción de expresión de la proteína recombinante, individualmente, aproximadamente en I_0 (tiempo en el inicio de la inducción) o I_1 o ambos;

opcionalmente, suministrar una fuente de nitrógeno a cualquiera de uno o más fermentadores, individualmente, en uno o más puntos de tiempo seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 , S_8 , S_9 y S_{10} .

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (i) dicho nivel de OD supera aproximadamente 35% a 40% y dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 300 a 700 rpm, opcionalmente aproximadamente 300 a 500 rpm.

3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (i) dicho nivel de OD supera aproximadamente 35% a 40% y dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 300 a 500 rpm, opcionalmente, aproximadamente 300 a 400 rpm, 350 a 450 rpm o 350 a 500 rpm.
4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (i) dicho nivel de OD supera aproximadamente 35% y dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 300 a 500 rpm; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 300 a 400 rpm, aproximadamente 400 a 500 rpm, aproximadamente 350 a 400 rpm, aproximadamente 400 a 450 rpm, aproximadamente 450 a 500 rpm, aproximadamente 300 rpm, aproximadamente 350 rpm, aproximadamente 400 rpm, aproximadamente 450 rpm, o aproximadamente 500 rpm.
5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (i) dicho nivel de OD supera aproximadamente 37% y dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 300 a 500 rpm; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 300 a 400 rpm, aproximadamente 400 a 500 rpm, aproximadamente 350 a 400 rpm, aproximadamente 400 a 450 rpm, aproximadamente 450 a 500 rpm, aproximadamente 300 rpm, aproximadamente 350 rpm, aproximadamente 400 rpm, aproximadamente 450 rpm, o aproximadamente 500 rpm.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (i) dicho nivel de OD supera aproximadamente 40% y dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 300 a 500 rpm; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 300 a 400 rpm, aproximadamente 400 a 500 rpm, aproximadamente 350 a 400 rpm, aproximadamente 400 a 450 rpm, aproximadamente 450 a 500 rpm, aproximadamente 300 rpm, aproximadamente 350 rpm, aproximadamente 400 rpm, aproximadamente 450 rpm, o aproximadamente 500 rpm.

7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (ii) dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 a 600 rpm y dicho pH supera aproximadamente 7,0 a 7,4; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 rpm, 550 rpm, o 600 rpm.
8. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (ii) dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 a 600 rpm y dicho pH supera aproximadamente 7,0 a 7,2; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 rpm, 550 rpm, o 600 rpm.
9. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (ii) dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 a 600 rpm y dicho pH supera aproximadamente 7,0; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 rpm, 550 rpm, o 600 rpm.
10. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (ii) dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 a 600 rpm y dicho pH supera aproximadamente 7,2; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 rpm, 550 rpm, o 600 rpm.
11. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (ii) dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 a 600 rpm y dicho pH supera aproximadamente 7,4; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 rpm, 550 rpm, o 600 rpm.
12. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-6, en donde (ii) dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 a 600 rpm y dicho pH supera aproximadamente 7,0 a 7,4; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 rpm, 550 rpm, o 600 rpm.
13. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-6, en donde (ii) dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 a 600 rpm y dicho pH supera aproximadamente 7,0 a 7,2; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 rpm, 550 rpm, o 600 rpm.

14. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-6, en donde (ii) dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 a 600 rpm y dicho pH supera aproximadamente 7,0; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 rpm, 550 rpm, o 600 rpm.
15. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-6, en donde (ii) dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 a 600 rpm y dicho pH supera aproximadamente 7,2; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 rpm, 550 rpm, o 600 rpm.
16. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-6, en donde (ii) dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 a 600 rpm y dicho pH supera aproximadamente 7,4; opcionalmente, dicha velocidad de agitación supera aproximadamente 500 rpm, 550 rpm, o 600 rpm.
17. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde se suministra una solución de alimentación de fuente de carbono siempre que se cumpla la condición (i) o (ii).
18. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde se suministra una solución de alimentación de fuente de carbono siempre que se cumplan ambas condiciones (i) y (ii).
19. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fuente de nitrógeno se suministra, individualmente, en aproximadamente I_0 y uno o más puntos de tiempo seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 , S_8 , S_9 y S_{10} ; opcionalmente, en aproximadamente I_0 y uno o más puntos de tiempo seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 , y S_8 .
20. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fuente de nitrógeno se suministra, individualmente, en aproximadamente I_0 y en uno a tres puntos de tiempo seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 , S_8 , S_9 y S_{10} ; opcionalmente, en aproximadamente I_0 y en uno o dos puntos de tiempo

seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 y S_8 ; opcionalmente, en aproximadamente I_0 y en un punto de tiempo seleccionado entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 y S_8 .

21. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fuente de nitrógeno se suministra, individualmente, en aproximadamente I_1 y en uno o más puntos de tiempo seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 , S_8 , S_9 y S_{10} ; opcionalmente, en aproximadamente I_1 y en uno o más puntos de tiempo seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 y S_8 .

22. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fuente de nitrógeno se suministra, individualmente, en aproximadamente I_1 y en uno a tres puntos de tiempo seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 , S_8 , S_9 y S_{10} ; opcionalmente, en aproximadamente I_1 y en uno o dos puntos de tiempo seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 y S_8 ; opcionalmente, en aproximadamente I_1 y en un punto de tiempo seleccionado entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 y S_8 .

23. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fuente de nitrógeno se suministra, individualmente, en aproximadamente I_0 y aproximadamente I_1 , y en uno o más puntos de tiempo seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 , S_8 , S_9 y S_{10} ; opcionalmente, en aproximadamente I_0 y aproximadamente I_1 , y en uno o más puntos de tiempo seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 y S_8 .

24. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la fuente de nitrógeno se suministra, individualmente, en aproximadamente I_0 y aproximadamente I_1 , y en uno a tres puntos de tiempo seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 , S_8 , S_9 y S_{10} , opcionalmente, en aproximadamente I_0 y aproximadamente I_1 , y en uno o dos puntos de tiempo seleccionados entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 y S_8 ; opcionalmente, en aproximadamente I_0 y aproximadamente I_1 , y en un punto de tiempo seleccionado entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 y S_8 .

25. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o 19-24, en donde se suministra una solución de alimentación de fuente de carbono al menos una vez a al menos un fermentador durante la fermentación de proteína recombinante por lotes alimentados; opcionalmente, en donde se suministra una solución de alimentación de fuente de carbono dos o más veces separadas a al menos un fermentador durante la fermentación de proteína recombinante por lotes alimentados; opcionalmente, la solución de alimentación de fuente de carbono es una solución de alimentación de glucosa, solución de alimentación de fructosa, solución de alimentación de galactosa, solución de alimentación de piruvato, o cualquier combinación de las mismas.

26. El método de acuerdo con la reivindicación 25, en donde la solución de alimentación de fuente de carbono es una solución de alimentación de glucosa.

27. El método de acuerdo con la reivindicación 26, en donde se suministra un total acumulado de aproximadamente 800 a 1500 g de glucosa a al menos un fermentador, por cada 5 L aproximadamente de capacidad del fermentador, al finalizar la fermentación de proteína recombinante por lotes alimentados.

28. El método de acuerdo con la reivindicación 26, en donde se suministra un total acumulado de aproximadamente 6000 a 9000 g de glucosa a al menos un fermentador al finalizar la fermentación de proteína recombinante por lotes alimentados, el al menos un fermentador tiene una capacidad aproximada de 40 L.

29. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 26-28, en donde la solución de alimentación de glucosa suministrada al uno o más fermentadores, individualmente, incluye D-(+)-glucosa; opcionalmente, en donde la solución de alimentación de glucosa suministrada al uno o más fermentadores, individualmente, contiene aproximadamente 600 a 900 g/L de D-(+)-glucosa anhidra.

30. El método de acuerdo con la reivindicación 29, en donde la solución de alimentación de glucosa suministrada al uno o más fermentadores,

individualmente, contiene además H_3BO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, EDTA, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 12N (37%) HCl, y/o $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; opcionalmente, aproximadamente 20 a 600 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

31. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-30, en donde la fuente de nitrógeno suministrada al uno o más fermentadores, individualmente, comprende potasio, opcionalmente en forma de K_2HPO_4 y/o KH_2PO_4 ; o en donde se suministra potasio, opcionalmente en forma de K_2HPO_4 y/o KH_2PO_4 al uno o más fermentadores, individualmente, aproximadamente al mismo tiempo que se suministra la fuente de nitrógeno.

32. El método de acuerdo con la reivindicación 31, en donde la fuente de nitrógeno contiene aproximadamente 1,0 a 3,0 M de potasio, o en donde se suministra potasio para alcanzar una concentración final de potasio de aproximadamente 35 a 40 mM en el uno o más fermentadores, individualmente.

33. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, 19-24, 26-28 o 30-32, en donde la fuente de nitrógeno suministrada al uno o más fermentadores, individualmente, comprende un extracto de levadura, peptona, soytone (peptona de soja), urea, triptona o cualquier combinación de los mismos; opcionalmente, la fuente de nitrógeno es una solución de extracto de levadura.

34. El método de acuerdo con la reivindicación 33, en donde la solución de extracto de levadura suministrada al uno o más fermentadores, individualmente, tiene una concentración de aproximadamente 100 a 600 g/L, 200 a 300 g/L, 300 a 400 g/L, 400 a 500 g/L, 500 a 600 g/L, 150 a 200 g/L, 200 a 250 g/L, 250 a 300 g/L, 300 a 350 g/L, 350 a 400 g/L, 400 a 450 g/L, 450 a 500 g/L, 100 g/L, 150 g/L, 200 g/L, 250 g/L, 300 g/L, 350 g/L, 400 g/L, 428 g/L, 450 g/L, 500 g/L, o 600 g/L.

35. El método de la reivindicación 34, en donde se suministran aproximadamente 40 a 150 mL de una solución de extracto de levadura al uno o más fermentadores cada vez, individualmente; opcionalmente, se suministran

aproximadamente 300 a 1500 mL de la solución de extracto de levadura al uno o más fermentadores cada vez, individualmente.

36. El método de acuerdo con la reivindicación 35, en donde se suministran de aproximadamente 45 a 60 ml de la solución de extracto de levadura al uno o más fermentadores, individualmente, si se suministran en cualquier punto de tiempo seleccionado entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 , S_8 , S_9 y S_{10} ; en donde se suministran de aproximadamente 90 a 120 ml de la solución de extracto de levadura al uno o más fermentadores, individualmente, si se suministran en aproximadamente I_0 o I_1 .

37. El método de acuerdo con la reivindicación 35, en donde se suministran de aproximadamente 350 a 500 mL de la solución de extracto de levadura al uno o más fermentadores, individualmente, si se suministran en cualquier punto de tiempo seleccionado entre aproximadamente S_5 , S_6 , S_7 , S_8 , S_9 y S_{10} ; en donde se suministran de aproximadamente 700 a 1200 mL de la solución de extracto de levadura al uno o más fermentadores, individualmente, si se suministran en aproximadamente I_0 o I_1 .

38. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, 19-24, 26-28, 30-32 o 34-37, en donde el uno o más fermentadores tienen, individualmente, una capacidad de aproximadamente 5 L a 200 L o mayor; opcionalmente, el uno o más fermentadores tienen cada uno una capacidad de aproximadamente 5 L; opcionalmente, el uno o más fermentadores tienen cada uno una capacidad de aproximadamente 40 L; opcionalmente, el uno o más fermentadores tienen, individualmente, de 1 a 200 L del medio.

39. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, 19-24, 26-28, 30-32 o 34-37, en donde el método comprende el uso de un mecanismo de control programado que incluye uno o más sensores que miden el nivel de OD, el pH, la medición rédox, y/o la cantidad de carbono en el uno o más fermentadores, y en donde dicho mecanismo controlado por programa inyecta automáticamente la solución de alimentación de fuente de carbono en el uno o más fermentadores.

40. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, 19-24, 26-28, 30-32, o 34-35, en donde la fermentación de proteína recombinante por lotes alimentados se realiza con una relación de inóculo de aproximadamente 6,0 a 8,5%; opcionalmente, aproximadamente 6,5 a 7%, 7,0 a 7,5%, 7,5 a 8%, o 8,0 a 8,5%; opcionalmente, aproximadamente 6,25%, 6,3%, 6,4%, 6,5%, 6,67%, 6,7%, 6,8%, 6,95%, 7,0%, 7,24%, 7,3%, 7,33%, 7,48%, 7,5%, 7,6%, 7,76%, 7,8%, 7,9%, 8%, 8,14%, o 8,4%.

41. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, 19-24, 26-28, 30-32, o 34-37, en donde la inducción de la expresión de la proteína recombinante se inicia cuando la DO_{600} del cultivo en un fermentador alcanza aproximadamente 40 a 80; opcionalmente, aproximadamente 40 a 50, 50 a 60, 60 a 70, 70 a 80, 55 a 60, 60 a 65, 65 a 70, 70 a 75, 75 a 80, 40, 45, 49, 52, 55, 60, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 75, 78, o 80.

42. El método de la reivindicación 41, en donde la expresión de la proteína recombinante se induce mediante la adición de isopropil-beta-D-1-tiogalactopiranosido (IPTG), opcionalmente, aproximadamente 3 a 5 mL de aproximadamente 0,70 a 0,85 mM de IPTG.

43. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, 19-24, 26-28, 30-32, 34-37, o 42, en donde dicha proteína recombinante comprende VX-001, AVE-9633, AC-9301, vacuna NY-ESO-1, eritropoyetina, EPO-Fc, CNTO-528, AMG-114, JR-013, Factor XIII, IFN- α 2b, Pro-IFN- α 2b, anticuerpo anti-PD1, y/o GCSF.

44. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, 19-24, 26-28, 30-32, 34-37, o 42, en donde dicha célula huésped procariota comprende una célula de *E. coli*, opcionalmente, BLR-Codon Plus (DE3)-RIL de *E. coli*, BLR-Codon Plus (DE3) de *E. coli* o BL21-CodonPlus (DE3)-RIL de *E. coli*.

45. El método de acuerdo con la reivindicación 44, que comprende además una etapa de recolección del cultivo de la célula huésped de *E. coli* o de una muestra del cultivo en el uno o más fermentadores tras la inducción de la expresión de la proteína recombinante, individualmente.

46. El método de acuerdo con la reivindicación 45, que comprende además el procesamiento de cuerpos de inclusión en el cultivo recolectado de la célula o muestra de *E. coli* para obtener un extracto de proteína bruta.

47. El método de acuerdo con la reivindicación 46, en donde la etapa de procesamiento de los cuerpos de inclusión incluye:

resuspender las células de *E. coli* en el cultivo o muestra recolectada en un amortiguador;

homogeneizar las células de *E. coli* una o más veces a entre aproximadamente 800 y 1200 bar, obteniendo así una mezcla celular;

centrifugar la mezcla celular para formar un sedimento celular utilizando un método de flujo de centrifugación con una velocidad de alimentación de entre aproximadamente 30-60 ml/min, y con una velocidad de centrifugación de entre aproximadamente 20.000 y 30.000 rpm; opcionalmente, dicha centrifugación utiliza una centrífuga continua;

recolectar el sedimento celular; y

procesar el sedimento celular para obtener un extracto de proteína bruta.

48. El método de la reivindicación 46, en donde el cultivo o la muestra se recolectan después o en aproximadamente I_4 a I_8 .

49. El método de la reivindicación 46, en donde el tiempo total para la fermentación de proteína recombinante por lotes alimentados incluye aproximadamente 10 a 95 horas o más, opcionalmente aproximadamente 14 ± 1 , 16 ± 1 , 24 ± 1 , 30 ± 1 , 36 ± 1 , 48 ± 1 , 60 ± 1 , 72 ± 1 , $84, \pm 1$, o 96 ± 1 horas.

50. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 46-49, que comprende además determinar el rendimiento de la proteína recombinante expresada en el extracto de proteína bruta, en donde el rendimiento se aumenta

en al menos aproximadamente 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 55%, al menos 60%, al menos aproximadamente 62,7%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 100%, al menos 110%, al menos 120%, al menos 130%, al menos 140%, al menos 150%, al menos 160%, al menos 170%, al menos 167%, al menos 180%, al menos 190%, al menos 200%, al menos 210%, al menos 220%, al menos 230%, al menos 240%, al menos 250%, al menos 260%, al menos 270%, al menos 280%, al menos 290%, al menos 300%, al menos 350%, al menos 383%, al menos 400%, al menos 450%, al menos 500%, al menos 550%, al menos 600%, al menos 650%, al menos 700%, al menos 748%, al menos 750%, al menos 800%, al menos 9 veces, al menos 10 veces, al menos 20 veces o más, en comparación con otro método de fermentación.

51. El método de acuerdo con la reivindicación 50, en donde el rendimiento se determina para un fermentador que tiene aproximadamente una capacidad de 40 L y el rendimiento se aumenta en al menos aproximadamente 100% a 200%, 100%, 105%, 110%, 115%, 120%, 125%, 130%, 135%, 140%, 145%, 150%, 155%, 160%, 165%, 170%, 175%, 180%, 190% o 200%, en comparación con el rendimiento de un fermentador que tiene una capacidad de aproximadamente 5 L en el otro método de fermentación; opcionalmente, la proteína recombinante es eritropoyetina, EPO-Fc, CNTO-528, AMG-114, JR-013, Factor XIII, IFN- α 2b, Pro-IFN- α 2b, anticuerpo anti-PD1 y/o GCSF.

52. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 46-49, que comprende además determinar el rendimiento de la proteína recombinante expresada en el extracto de proteína bruta, en donde el rendimiento es de aproximadamente 5 a 10 g de la proteína recombinante en un fermentador que tiene una capacidad de aproximadamente 5 L; opcionalmente, en donde el rendimiento es de aproximadamente 20 a 30 g de la proteína recombinante en un fermentador que tiene una capacidad de aproximadamente 40 L; opcionalmente, la proteína recombinante es eritropoyetina, EPO-Fc, CNTO-528,

AMG-114, JR-013, Factor XIII, IFN- α 2b, Pro-IFN- α 2b, anticuerpo anti-PD1 y/o GCSF.

53. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además las siguientes etapas realizadas antes de la fermentación de proteína recombinante por lotes alimentados:

obtener un ácido nucleico con optimización de codones que codifica la proteína recombinante;

transfectar dicho ácido nucleico con optimización de codones en la célula huésped procariota; y

polarizar dicha célula huésped procariota y cultivar dicha célula huésped procariota a aproximadamente 36-37°C durante la noche o aproximadamente 12-18 horas.

54. El método de acuerdo con la reivindicación 53, en donde dicha célula huésped procariota es BLR21(DE3).

55. El método de acuerdo con la reivindicación 54, en donde dicha BLR21(DE3) contiene más de un vector.

56. Un mecanismo o equipo controlado por programa que comprende:

a. un aparato equipado con uno o más sensores capaces de medir el nivel de oxígeno, el pH y/o la agitación del medio de cultivo en un reactor de fermentación en un proceso de fermentación en modo periódico o continuo; y

b. un sistema de inyección de solución de alimentación integrado dentro de dicho mecanismo controlado por programa que está programado para proporcionar una o más soluciones de alimentación a un reactor de fermentación en función de los niveles de oxígeno medidos, el pH y/o la agitación en el medio de cultivo en un intervalo periódico o continuo.

57. El mecanismo o equipo controlado por programa de acuerdo con la reivindicación 56, en donde uno o más sensores transmiten mediciones en tiempo real al mecanismo controlado por programa.

58. El mecanismo o equipo controlado por programa de acuerdo con la reivindicación 56, que comprende además una unidad de control configurada para recibir mediciones del sensor y ajustar automáticamente la velocidad de inyección y el volumen de la solución de alimentación en función de los parámetros medidos.

59. El mecanismo o equipo controlado por programa de acuerdo con la reivindicación 56, en donde el sistema de inyección de la solución de alimentación comprende un reservorio, una bomba dosificadora y un sistema de distribución para suministrar la solución de alimentación al proceso de fermentación.

60. El mecanismo o equipo controlado por programa de acuerdo con la reivindicación 56, en donde el sistema de inyección de solución de alimentación está programado para incluir puntos de ajuste predeterminados y algoritmos de control para modificar los niveles de glucosa, el oxígeno disuelto y/o el pH dentro del proceso de fermentación en el medio de cultivo.

61. Un método para regular automáticamente la concentración de glucosa, el nivel de oxígeno, el pH y/o la agitación durante la fermentación, que comprende:

- a. parámetros de medición del nivel de oxígeno, del pH y/o de la agitación de la fermentación con uno o más sensores;
- b. transmitir los parámetros medidos a un mecanismo controlado por programa; y
- c. ajuste automáticamente la velocidad de inyección, el volumen de una solución de alimentación y la agitación en función de los parámetros medidos.

62. El método de acuerdo con la reivindicación 61, en donde los parámetros medidos se monitorean continuamente y se utilizan para controlar dinámicamente el nivel de oxígeno, el pH y/o la agitación de la fermentación.

63. El método de acuerdo con la reivindicación 61, en donde cualquiera de las etapas (a), (b) y/o (c) se lleva a cabo en un intervalo periódico o de manera continua.

64. El método de la reivindicación 1, en donde dicha medición de un nivel de oxígeno disuelto (OD), una velocidad de agitación y un pH en uno o más fermentadores; y/o el suministro de una solución de alimentación de fuente de carbono a cualquiera de los uno o más fermentadores utilizando un mecanismo controlado por programa se mide y/o se suministra en un intervalo de tiempo periódico, o se mide y/o se suministra continuamente.

65. El método de acuerdo con la reivindicación 63 o 64, en donde dicho intervalo periódico comprende aproximadamente cada 1, 1,5, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, 11, 11,5, 12, 12,5, 13, 13,5, 14, 14,5, 15, 15,5, 16, 16,5, 17, 17,5, 18, 18,5, 19, 19,5, 20, 20,5, 21, 21,5, 22,5 y/o 23 horas; opcionalmente cada 30 minutos hasta 80 o más de 80 horas.