

# 如何快速達到高效能?

## 高通量細胞株篩選系統

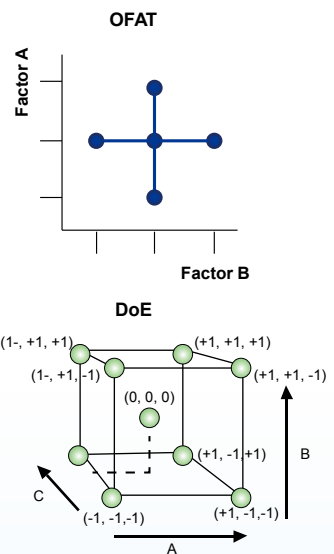
製藥業瞬息萬變，如何以最節省時間節省金錢的方式創造最大效益，永遠是最大課題

### 掌控細胞生產效能的三大因子：

#### 細胞株挑選 ◆ 培養基最佳化 ◆ 產程調整

製藥業瞬息萬變，如何以最節省時間節省金錢的方式創造最大效益，永遠是最大課題。對抗體、蛋白質藥和相關生物製程而言，如何挑選出最穩定且產值最好的細胞株、調整培養基比例提升細胞數及產量、產程條件的調整等等，每個步驟的測試和比較便決定了未來生產效能與生產成本。經過篩選的組合越多，就越有機會找到最低成本高效能的生產方式。Shaking flask 及 spin tube 是目前常見的條件篩選工具，然而在時間和人力有限之下，實驗組數壓縮很容易成了權宜之計，進而導致未來生產效能受限。

同時節省時間、人力、成本的最好方法: 小體積高通量篩選。



### 產程條件篩選流程



96 孔深孔盤  
(0.5 – 1.0 mL)



spin tube 離心管  
(10 - 30 mL)



迷你發酵槽  
(250ml-1L)



玻璃發酵槽  
(3-7L)

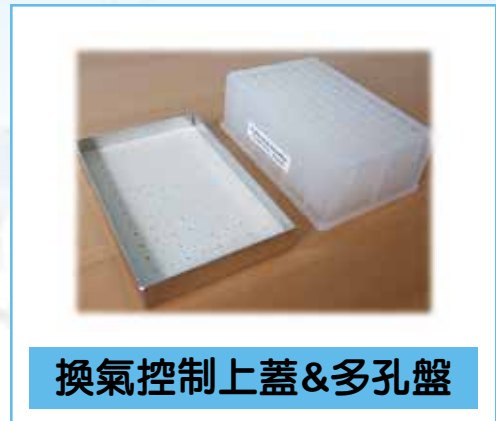
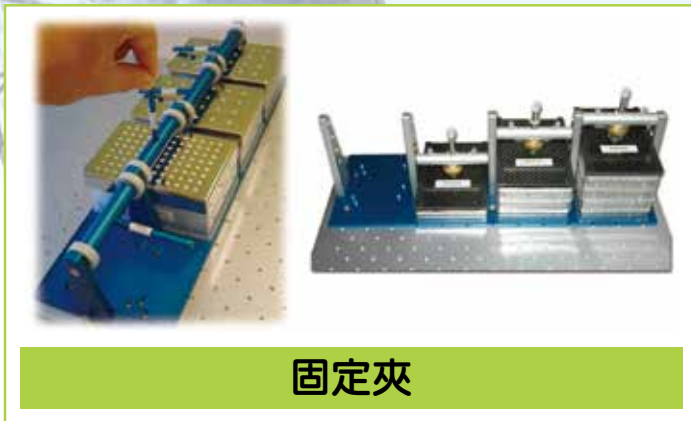
條件數

產程資訊量

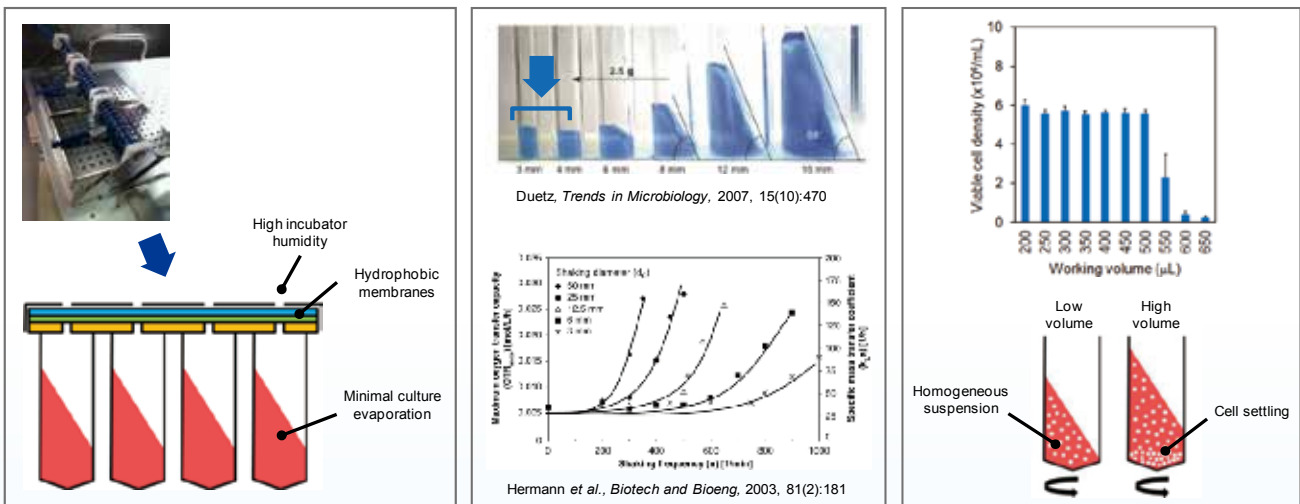
### 讓 Shaker 達到最好的細胞株篩選及培養基最佳化效益 - 96 孔深孔盤震盪培養系統

最常見而普遍的小體積高通量篩選就是實驗室的 96、24 及 6 孔盤，有低價、小體積培養等優點，但若沒有合適的配件，會面臨氣體交換效率差、每個well間蒸散效率不均、混合不完全甚至是互相汙染的問題。Micro-Flask 系統，給多孔盤一個特殊上蓋，讓多孔盤搖身一變成為 96、24 或 6 個低成本的生物反應器/發酵槽。

## 96孔深孔盤搖晃培養系統:

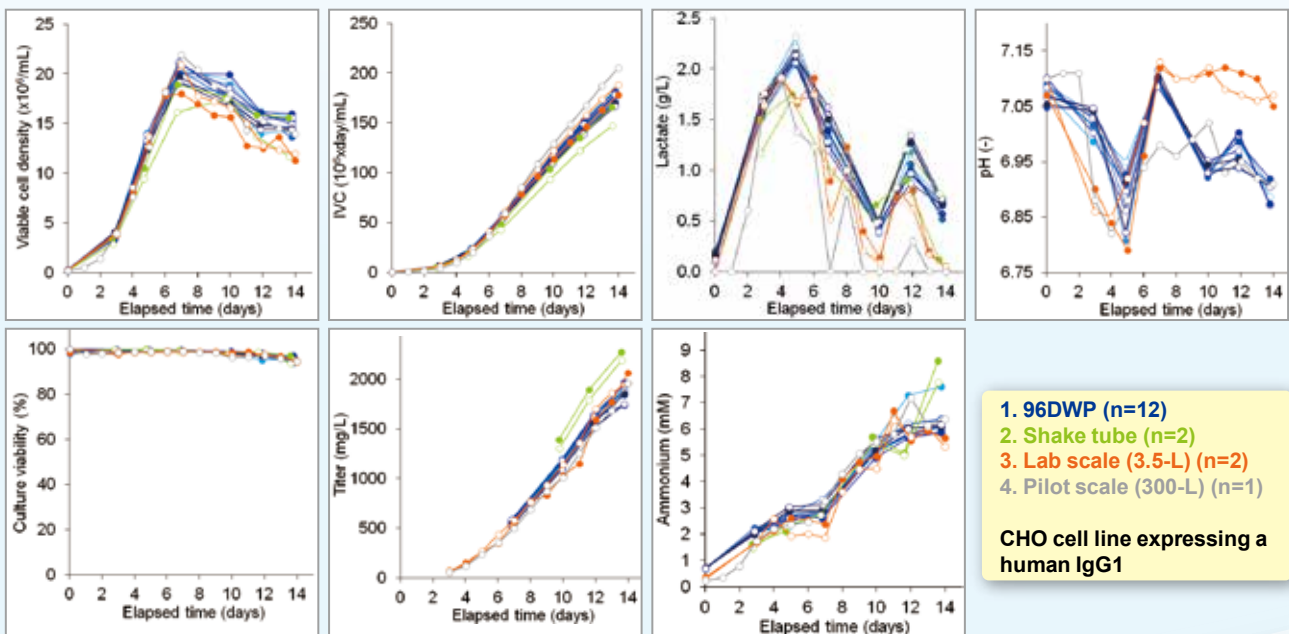


## 96孔深孔盤震盪培養系統使用方法:



1. 培養於具換氣控制上蓋的96孔深孔盤
2. 培養於CO<sub>2</sub>培養箱，控制溫度、濕度及CO<sub>2</sub>含量
3. 利用高轉速控制氣體交換效率

## 96孔深孔盤系統測試的條件，成功在大量培養系統中複製!



# 如何讓平凡的多孔盤

## 竟搖身一變成微型發酵槽？



### 特製的五層式上蓋設計

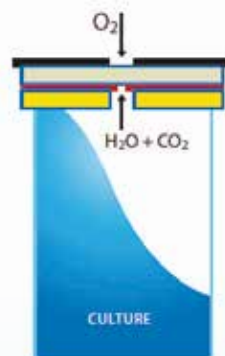
- A - 不鏽鋼上蓋穩固不滑脫
- B - microfiber阻隔大型污染源
- C - ePTFE濾膜阻隔微生物，隔絕外界污染
- D - 小孔洞不鏽鋼控制氣體交換率及蒸發率
- E - silicone密封，避免各well相互污染

### 高氣體交換效率

穩定固定及隔離各個Well，讓轉速提昇而不污染。氣體交換效率可達每分鐘1-2倍工作體積。即使在高濃度需氧條件40 mmol/L·h-1之下仍可維持氧氣濃度至少18%。

### 蒸散效率一致

控制透氣孔大小，使氣體蒸散維持在每天2%的低蒸散率，培養時間可以拉長到數週。



### 根據需求取樣次數、氣體需求量決定培養體積

Type of microtiter plate	Well volume	Culture volume	Orbital shaking frequency	Shaking amplitude	O <sub>2</sub> -transfer rate (30°C, air, 1 bar)	Headspace refreshment rate	Evaporation rate per well (at 30°C)	Mixing pattern at 300 rpm ampl.	
								25 mm	50 mm
24-square deep-well polypropylene, 17x17 mm, depth 40 mm	11000 µl	2500 µl	300 rpm	50 mm	51 mmol O <sub>2</sub> / l / h	2.5 ml / min	50% humidity: 50 µl H <sub>2</sub> O per day 75% humidity: 25 µl H <sub>2</sub> O per day		
		2500 µl	300 rpm	25 mm	39 mmol O <sub>2</sub> / l / h (1 VVM)	2.5 ml / min (0.6 VVM)			
		2500 µl	220 rpm	50 mm	35 mmol O <sub>2</sub> / l / h			2.5 ml / min (0.6 VVM)	
		4000 µl	300 rpm	50 mm	24 mmol O <sub>2</sub> / l / h	2.5 ml / min (0.6 VVM)			
4000 µl	220 rpm	25 mm	24 mmol O <sub>2</sub> / l / h						
24-round low-well polystyrene, Ø16 mm, depth 18 mm	3000 µl	750 µl	300 rpm	50 mm	40 mmol O <sub>2</sub> / l / h	1.1 ml / min (1.4 VVM)	50% humidity: 30 µl H <sub>2</sub> O per day 75% humidity: 15 µl H <sub>2</sub> O per day		
		750 µl	300 rpm	25 mm	25 mmol O <sub>2</sub> / l / h	1.1 ml / min (1.1 VVM)			
		1000 µl	300 rpm	50 mm	30 mmol O <sub>2</sub> / l / h			1.1 ml / min (1.1 VVM)	
		1000 µl	300 rpm	25 mm	19 mmol O <sub>2</sub> / l / h				
96-square deep-well polypropylene, 8x8 mm, depth 40 mm	2400 µl	500 µl	300 rpm	50 mm	38 mmol O <sub>2</sub> / l / h	1 ml / min (2 VVM)	50% humidity: 22 µl H <sub>2</sub> O per day 75% humidity: 11 µl H <sub>2</sub> O per day		
		500 µl	300 rpm	25 mm	12 mmol O <sub>2</sub> / l / h	1 ml / min (1.3 VVM)			
		750 µl	300 rpm	50 mm	24 mmol O <sub>2</sub> / l / h			1 ml / min (1.3 VVM)	
		750 µl	300 rpm	25 mm	7 mmol O <sub>2</sub> / l / h				
		1000 µl	300 rpm	50 mm	18 mmol O <sub>2</sub> / l / h	1 ml / min (1 VVM)			
		1000 µl	300 rpm	25 mm	3 mmol O <sub>2</sub> / l / h				
96-round low-well polystyrene, Ø6.5 mm, depth 11 mm	380 µl	100 µl	300 rpm	50 mm	39 mmol O <sub>2</sub> / l / h	250 µl / min (2.5 VVM)	50% humidity: 6 µl H <sub>2</sub> O per day 75% humidity: 3 µl H <sub>2</sub> O per day		
		100 µl	300 rpm	25 mm	20 mmol O <sub>2</sub> / l / h	250 µl / min (1.7 VVM)			
		150 µl	300 rpm	50 mm	32 mmol O <sub>2</sub> / l / h			250 µl / min (1.7 VVM)	
		150 µl	300 rpm	25 mm	16 mmol O <sub>2</sub> / l / h				
		200 µl	220 rpm	50 mm	12 mmol O <sub>2</sub> / l / h	250 µl / min (1.3 VVM)			
		200 µl	300 rpm	25 mm	12 mmol O <sub>2</sub> / l / h				

適合培養基最佳化

適合細胞株挑選

挑選情報: 方孔盤的四角可以在圓形震盪時發揮檔版的效益，提升氣體交換效率和混合效能

# Micro Flask 常見 Q&A

## Q1: 市售的多孔盤都可以用嗎?

A: 可以，多種三明治上蓋可以配合市售各廠牌一般/深孔多孔盤。

## Q2: 是否可以配合機器手臂?

A: 可以，多孔盤和上蓋可以選擇有凹槽設計的品項，搭配機器手臂使用。許多國外大廠都配合機器手臂一次操作數百至數千個條件!

## Q3: 需要有甚麼設備才能使用 Micro Flask?

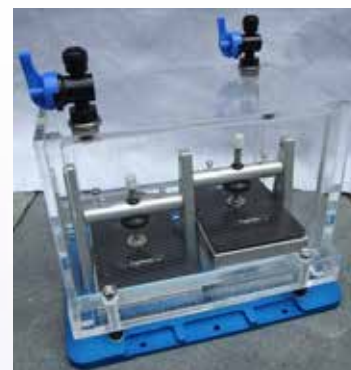
A: 和 Shaking flask 及 Spin tube 培養相同，只要有 CO2 培養箱及 Orbital Shaker 就可以了!

## Q4: Micro Flask 可以使用在厭氧培養嗎?

A: 可以，只要搭配氣密箱就可以在厭氧環境中使用。

## Q5: Micro Flask 可以應用在哪裡呢?

- A:
- 找出次級代謝物 (Secondary metabolites)
  - 培養基最佳化
  - 代謝通量分析 (Metabolic flux studies)
  - 長期培養 (20天以上)
  - 變異株 (Mutant library) 篩選
  - 多源基因庫 (Metagenomic library screening) 篩選
  - 臨床隔離分析比較



▲ 厭氧培養氣密箱

### 發表文獻:

1. Duetz, W.A. (2007) Microtiter plates as mini-bioreactors: miniaturization of fermentation methods, TRENDS in Microbiology 15 (10): 470-475
2. Duetz, W.A., Kuhner M., Lohser R. (2006) Microbial and cell growth in microtiter plates, GENETIC ENGINEERING NEWS 26 (11): 44-46 JUN 1 2006
3. Duetz, W.A., Rüedi, L., Hermann, R. O'Connor, K, Büchs, J., and Witholt, B. (2000). Methods for intense aeration, growth, storage, and replication of bacterial strains in microtiter plates. Applied and Environmental Microbiology 66:2641-2646
4. Duetz, W.A. and Witholt, B. (2001). Effectiveness of orbital shaking for the aeration of suspended bacterial cultures in square deepwell microtiter plates. Biochemical Engineering Journal, 7: 113-115
5. Duetz, W.A., Minas, W., Kuhner, M., Clerval, R., Fjallman, A.H.M., Witholt, B. (2001). Miniaturized microbial growth systems in screening. Bioworld 2: 8-10
6. Duetz, WA, Witholt, B. (2004). Oxygen transfer by orbital shaking of square vessels and deepwell microtiter plates of various dimensions. Biochemical Engineering Journal 17: 181-185
7. Warr, S., White, S., Chim, Y.T., Patel, J., Bosteels H. (2011). Cell line selection using the Duetz Microflask System. 22nd ESACT Meeting.

