

# 微小型生物反应器及其在生物医药领域的应用展望

李雪良<sup>1</sup>, 钱钧弢<sup>2</sup>, 刘金<sup>2</sup>, 房峻<sup>1</sup>, 陈坚<sup>1</sup>

1 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122

2 迪必尔生物工程(上海)有限公司, 上海 201611

李雪良, 钱钧弢, 刘金, 等. 微小型生物反应器及其在生物医药领域的应用展望. 生物工程学报, 2020, 36(11): 2241-2249.

Li XL, Qian JT, Liu J, et al. Application of micro- and mini-bioreactors in biomedicine development and production. Chin J Biotech, 2020, 36(11): 2241-2249.

**摘要:** 微小型生物反应器体积微小但在线分析检测和过程控制功能媲美台式装备。其核心支撑技术包括一次性材料及微加工技术、非接触式光学传感器、自动化以及实验设计 (DOE)、数据分析软件与过程控制的整合。由于体积微小、湍流程度和单位能耗较低, 微小型反应器内的混合、传质、剪切特性与工业规模设备有一定的区别。现阶段微小型生物反应器主要用于菌株和细胞系筛选和工艺优化, 在实现高通量工艺的同时确保了数据的丰度, 对缩短研发周期和加速产品上市, 尤其是在应对突发性传染性传染病方面有着重要的意义。未来, 精准医疗概念的落实也依赖功能柔性化的微小型生物反应器系统。

**关键词:** 微型生物反应器, 平行生物反应器, 高通量技术, 生物医药

## Application of micro- and mini-bioreactors in biomedicine development and production

Xueliang Li<sup>1</sup>, Juntao Qian<sup>2</sup>, Jin Liu<sup>2</sup>, Jun Fang<sup>1</sup>, and Jian Chen<sup>1</sup>

1 School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China

2 T&J Bioengineering (Shanghai), Ltd., Shanghai 201611, China

**Abstract:** Micro- and mini-bioreactors are characterized by their miniature working volume and comprehensive monitoring of process data, e.g., biomass, pH, dissolved oxygen, and fluorescence that are on par with conventional bench-top systems. The technical advancements of micro- and mini-bioreactors are supported by single-use material and micro-manufacturing, non-invasive optical sensors, automation such as industrial robotics and the integration of design of experiment software with data acquisition and process control. Owing to the miniature scales, micro-bioreactors typically feature lower turbulence intensity and energy dissipation rate, resulting in different mass transfer, mixing and shear conditions as compared to industrial scale equipment. Mini-bioreactors, nevertheless, are closer to large vessels. Micro- and mini-bioreactors are used mostly in screening and process development nowadays, owing to their combined high throughput and richness of data. They are also the hardware that will enable “precision medicine” in the near future.

**Keywords:** micro-bioreactor, parallel-bioreactor, high throughput technology, biomedicine

**Received:** March 25, 2020; **Accepted:** May 11, 2020

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (No. 31830068), Fundamental Research Funds for the Central Universities (No. JUSRP12011).

**Corresponding author:** Jian Chen. Tel: +86-510-85918307; Fax: +86-510-85918312; E-mail: jchen@jiangnan.edu.cn

国家自然科学基金 (No. 31830068), 中央高校基本科研业务费专项资金 (No. JUSRP12011) 资助。

网络出版时间: 2020-05-27

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20200527.1128.005.html>

生物反应器曾是推动生物制品产业进步的主要动力。例如,得益于搅拌釜反应器深层发酵技术, Pfizer 公司的纽约工厂在 1944 年每天生产的青霉素都超过 1943 年一整年的总和<sup>[1]</sup>。此后很长一段时间内,由于通过随机诱变等技术进行菌种改良效率低下,反应器设计及工艺优化一直是提高生物过程效率的主要手段。然而,本世纪兴起的合成生物学使直接在基因和代谢水平对细胞进行改造变得越来越方便,而后续新菌种的工程化技术却比较缺乏,反应器相关研究也未得到高度重视。这种状况反过来又导致现有的装备不能满足对通过合成生物学技术得到的大量菌种、细胞进行筛选和工艺优化的需要。这种上、下游脱节的现象制约了我国现代生物技术产品的产业化,生物制造产业的健康发展和产业升级也受到了限制。同时,在以大数据和人工智能为代表的第 4 次工业革命到来之际,传统的实验室规模生物反应器产生数据的速度和质量远远不能满足机器学习、大数据挖掘等新技术的需要。高度自动化和功能柔性化的高通量微型生物反应器有望从根本上解决上述问题。

本文将对微型生物反应器关键支撑技术、性能指标及其在现阶段的典型应用场景进行介绍,并对它在未来生物医药领域的可能应用进行展望。我国对微型生物反应器的设计制造及其应用的研究尚处于起步阶段,希望本文为此类装备的研制和应用开发提供参考。

## 1 微型生物反应器的界定

广义上的生物反应器可以包括从生产流感疫苗用的鸡蛋到废水处理用的曝气池等任何可以为生化反应提供一个可控环境的装置和系统。但本文只讨论狭义的生物反应器,即配备了多种传感器以及自动控制系统,可以精确测量与控制 pH、溶氧、温度等基本环境参数和营养物质、生物物质浓度等指标的设备。现代意义上的生物反应器是

20 世纪 60–70 年代逐渐完善起来的<sup>[2]</sup>,按照工作体积和功能分为小试、中试、工业化规模反应器。虽然这种界定方法已经不能准确描述未来生物反应器体积小型化、功能柔性化的趋势,但是为了便于理解,我们仍旧按照该方法,将微型反应器与常规反应器进行比较。

### 1.1 微型生物反应器 (Micro-bioreactors)

通过振荡实现混合和传质的微型反应器工作体积一般在 1–5 mL 甚至更低,高端产品包括 m2p-labs 的 Biolector 系列,工作体积为 0.8–2.4 mL;通过搅拌实现混合和传质的微型反应器体积稍大,一般在 10–50 mL,如 Sartorius 的 ambr<sup>®</sup> 15 系列,工作体积在 12 mL 以下。受操作空间限制,微型生物反应器均采用高度集成的非接触式的光学传感器实现过程参数的监控,这也是其特点之一,在本文第 2.2 节还有详细介绍。Wong 等<sup>[3]</sup>开发的基于廉价配件和开源软件的 eVOLVER 微型生物反应器使用 50 mL 的硅烷化玻璃瓶作为容器,装液量为 40 mL 左右。为了控制成本,该设备不具备 pH、溶氧的测量和控制,其功能更接近于摇瓶,达不到本文对生物反应器的基本要求,也不符合任何医药或食品生产规范。

### 1.2 小型反应器 (Mini-bioreactors)

小型反应器的工作体积较微型反应器大 1 到 2 个数量级,一般在 100–500 mL。较为成功的产品包括 Eppendorf 的 DASbox<sup>®</sup>以及国产的迪必尔 T&J Minibox<sup>®</sup>平行生物反应器系列。这些产品在结构上和常规的台式 (Bench-top) 生物反应器没有太大区别(图 1),配有符合国际和行业标准的软、硬件接口,可以使用更丰富的第三方在线分析仪表而不是局限于原厂配件。现有小型反应器产品的罐体既有可蒸汽灭菌的玻璃+不锈钢材质的,如上述 DASbox<sup>®</sup>以及 T&J Minibox<sup>®</sup>;也有聚合物材质的一次性产品,如 Sartorius 的 ambr<sup>®</sup> 250 系列。其中,一次性罐体是当前的发展趋势。



图1 典型小型平行反应器系统示意图

Fig. 1 A typical parallel mini bioreactor system.

### 1.3 常规生物反应器

按照本文提出的界定方法,常规生物反应器包括小试、中试和商业化规模。其中,小试常用的台式反应器(Bench-top bioreactors),体积较上节中介绍的小型反应器大1个数量级,为1–5 L。它是目前生物实验室的主要设备,技术十分成熟且有多种国内外品牌可供选择。实验室中试(Lab-pilot bioreactors)和工厂中试(Pilot bioreactors)的反应器体积较台式反应器依次再大1到2个数量级,分别为10–50 L和100–500 L。但在中试以上级别,因产品和反应体系的不同,简单根据工作体积来界定已经没有太大意义。大规模微生物培养反应器在中试规模就可能达到5 000 L,而很多商业规模的细胞培养反应器一般不超过1 000–3 000 L<sup>[4]</sup>,比某些中试规模微生物反应器体积还小。常规生物反应器一般使用玻璃和不锈钢材质,但近年来1 000 L及以下的细胞培养反应器开始越来越多使用一次性容器,主要是为了减少因清洗或灭菌不彻底带来的污染以及节约清洗和灭菌本身消耗的时间<sup>[4–5]</sup>。

## 2 微型生物反应器的制造技术

目前生物反应器的小型化和微型化的主要目的是为了进行高通量实验进而加速研发过程,缩短产品上市时间。这一点在应对突发性传染性疾病时至关重要。实现这一目标要依赖合适的材料及其加工技术、紧凑且可靠的传感器、在微小体积内对过程参数进行控制的执行器件以及与之配

套的自动化和数据处理软件。

### 2.1 材质与加工

材料与反应体系的兼容性是首先要考虑的问题。即便是化学兼容,很多生物反应的产物或者底物吸附到材料的表面,也会对培养过程和结果分析产生影响,这一问题因微型反应器相对巨大的比表面积尤为突出。此外,低品质的材料还可能会含有对细胞或微生物有害的重金属等物质,影响生长和产物生成。有些痕量金属还可能起到催化剂的作用<sup>[6]</sup>。由于微型反应器的过程参数,如生物质浓度、pH、溶氧等多是透过容器壁进行光学测量,材料的透光性能也不能忽视。为了能够快速批量生产,微型反应器所使用的材质还需要易于加工。综合考虑,高纯度聚苯乙烯是微型生物反应器的首选材料,最经济的生产方式是注塑<sup>[7]</sup>。对于较为复杂的微结构,注塑成型后还要通过其他的工艺进一步加工或者组装。

由于聚苯乙烯不能承受高温高压,这种材质的微型反应器只能一次性使用伽马射线照射灭菌。虽然仅能使用一次,但从产品的整个生命周期来看,微型反应器比可重复使用的钢铁、玻璃等材料制成的传统反应器更加环保。较小的反应器体积可以节省大量的土地面积和昂贵的试剂,且只产生微量的废水。如果管理得当,塑料材质的回收利用也更加容易。相比之下,钢铁和玻璃制造是传统的重污染工业,其加工、运输过程也直接或间接消耗更多的能源,产生更多的污染。使用过程会产生大量废水(包括清洗用的高浓度烧碱废液)并消耗大量的水、电资源进行高温高压灭菌。目前,钢铁、电力、自来水、污水处理等涉及到国计民生的行业能得到国家财政的补贴,用户对其真实的成本没有直观的感受。随着我国技术革新和产业转型,一次性微型反应器的成本优势会逐渐体现出来。

### 2.2 传感器技术

对溶氧、pH、二氧化碳、葡萄糖、温度等过

程参数的测量和控制,是微小型生物反应器技术中最关键的一个方面,曾一度是制约其发展的瓶颈。非侵入式的光学传感器是微型生物反应器的最佳选择,无需取样即可连续测量和记录整个发酵过程中参数的变化趋势。基于光信号的感应元件与检测电路可以彻底分开,因此电路部分可以重复使用,这对一次性生物反应器来说是必要的。图2是m2p-labs花瓣微孔板反应器底部集成的溶氧和pH传感器,以及用于测量细胞浓度或荧光强度的窗口示意图。图2也展示了孔板上用于存储补料溶液或者碱液/酸液的储槽,以及从储槽通向反应器孔的微流控管道和流量控制的微型阀门。小型反应器,尤其是可重复使用的玻璃罐体一般配有标准传感器接口,同一个反应器可能会采用不同形式的传感器,本文不再分别介绍。

### 2.2.1 溶氧

微小型生物反应器上应用较为成熟的溶氧测量是基于氧气对荧光的淬灭作用,即荧光物质发光强度在氧原子的作用下衰减加速的现象。该现象在19世纪30年代就被发现,但是由于反应体系内其他的物质,以及环境的温度和光照等因素的干扰,一直没有成功用于溶氧浓度测定。20世纪80年代人们发现固定在硅胶薄膜内的荧光物质颗粒在薄膜的保护作用下稳定性和对溶氧的灵敏度大大提高<sup>[8-9]</sup>,此后基于这个原理的光学溶氧传感器获得广泛应用,且不仅限于微小型生物反应器。

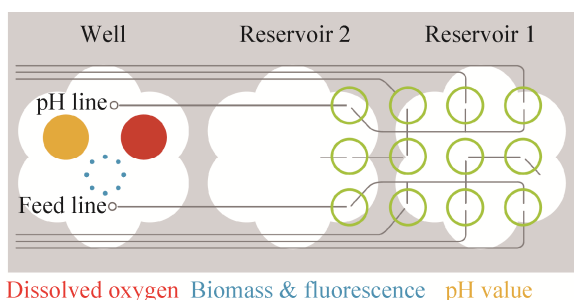


图2 集成到微孔板反应器底部的光学传感器及补料、pH控制储槽和微流控阀门

Fig. 2 Optical sensors and microfluidic systems integrated into m2p-labs FlowerPlate®.

### 2.2.2 pH

典型的光学pH传感器靠的是特定颜料在质子化或者去质子化时会吸收或者放出荧光的性质。这些颜料发出的荧光强度一般随着pH的增加而降低,如图3所示。线性范围较好的区域约是pKa两侧各1个pH单位。超过这个范围,信噪比将受到严重影响。因此,在选用一次性微小型生物反应器时,pH范围的适配格外重要。如果要覆盖较宽的pH值则需要混合颜料或者多个pH传感器<sup>[10]</sup>,但在偏离等电点后,精度仍然只能做到0.1个pH单位。鉴于这个原因,一些要求较高的一次性反应器会配备一次性电化学pH电极,如Satorius的ambr® 250以及Celltainer®的一次性培养袋。

### 2.2.3 其他参数的检测

除了直接测量pH之外,对pH敏感的颜料也被用来间接测量溶解的CO<sub>2</sub>。它是基于碳酸氢根解离平衡来实现的。有根据碳酸氢根解离平衡制成的标准尺寸的CO<sub>2</sub>电极,可以直接用于小型生物反应器。德国PreSens开发了贴片式CO<sub>2</sub>传感器,原则上可以集成到微型反应器但目前尚未有大规模成功应用的例子。

葡萄糖测量目前最成熟的技术是基于酶催化的,国内外都有一性使用产品,包括标准尺寸的电极以及整合到培养容器上的微小型产品。但作为电化学传感器而非光学传感器,它需要有导线连接到信号处理元件。此外,这种电极本身会消耗葡

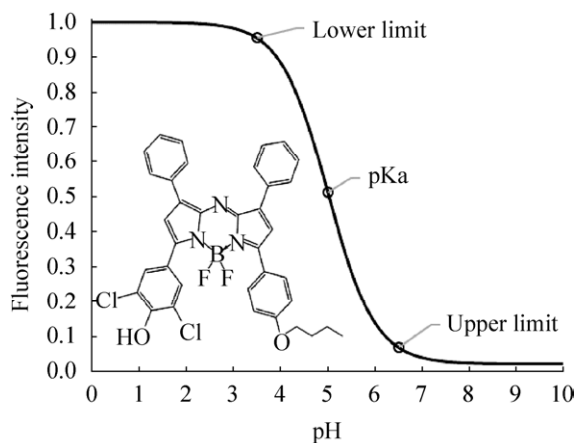


图3 一种aza-BODIPY颜料的pH标定曲线  
Fig. 3 Calibration curve of a pH sensitive dye.

葡萄糖,对微型反应器尤其是维持较低葡萄糖浓度的微型反应器会有一些影响。在小型反应器中的应用会更容易一些。

微型反应器的温度测量和控制有着两方面的重要性。除了生化反应本身的要求之外,温度还决定了其他感应元件的准确度。由于生物反应一般比较温和,温度的测量是相对容易和廉价的。对于基于微孔板的微型反应器,巨大的比表面积和很小的反应体积意味着很好的传热效率,仅需要维持培养室内整体温度即可。但其缺点是温度这个重要的参数不能作为一个变量用于实验设计,这对很多生物催化体系来说是巨大的不便。对于 Sartorius ambr<sup>®</sup> 15 系列这样 10 mL 以上的微型反应器,每个反应器容器有独立的腔室,靠容器壁传热可以保持内外温度相等,所以无需将温度传感器集成到反应器上。小型生物反应器则可使用更加成熟的插入式热电偶/热电阻以及换热装置来实现温度控制。

### 2.3 自动化技术

小型化与高通量这两个特点决定了在微型生物反应器上手工进行装液、接种、取样等操作几乎不可有效完成。因此,这些设备一般配有额外的液体试剂处理系统,如 m2p-labs RoboLector<sup>®</sup>,或者是集成液体试剂处理系统,如 Sartorius ambr<sup>®</sup> 系列,或者是外置自动取样系统,如迪必尔的 T&J-QuickFlow 16 通道自动取样分析仪。这些装置本质上属于工业机器人。借助于实验设计软件,实验人员无需进行手工计算,只需简单输入范围并指定要使用的反应器数量,系统即可自动完成初始底物浓度等参数的配置以及定时取样。同时,微型生物反应器所配套的控制软件也越来越多地集成数据可视化与分析功能,如迪必尔的 D<sup>2</sup>MS 系统(软著登记号:2020SR1244688)。这与传统台式生物反应器基于可编程控制器(Programmable logic controller, PLC)或嵌入式系统开发的人机交互界面(Human machine interface, HMI)相比要方便和快捷许多。前者适合工艺定型的工业化生产,而后者更适合实验室研发环境以及柔性化和智能化生

产。高度自动化保证了结果的可重复性;多个反应器平行运行可以在短时间获得大量数据;强大的数据可视化和数据处理软件,使实验结果一目了然。这些都是高通量微型生物反应器重要的支撑技术。

## 3 微型生物反应器的性能

生物反应器的目的是为了给微生物或者动、植物细胞提供一个最佳的微环境。然而,即便是微型反应器,其尺寸仍然比细胞大若干个数量级。宏观的操作条件未必能完全代表细胞尺度上的情况,这就涉及到反应器内的传质与混合等问题。由于搅拌式与振荡式微型生物反应器有着完全不同的流体力学特性,本节对二者分别进行简单介绍。

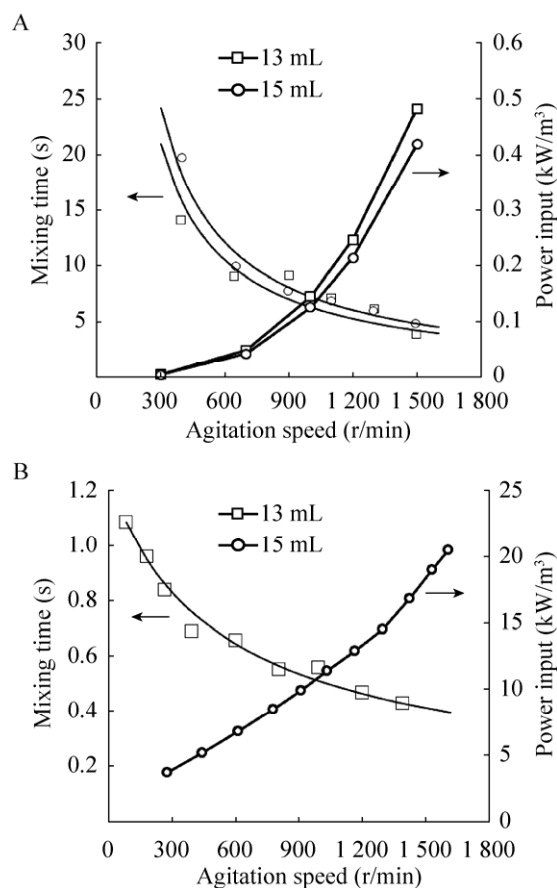


图4 Sartorius ambr<sup>®</sup> 15 (A) 和迪必尔 MiniBox (B) 微型反应器混合时间与单位能耗曲线

Fig. 4 Mixing time and power density v.s. agitation speed for (A) Sartorius ambr<sup>®</sup> 15 and (B) T&J MiniBox parallel bioreactors.



### 3.1 搅拌式微型反应器

搅拌式微型生物反应器虽然工作体积较常规台式设备小很多,但其结构类似,符合同样的机理<sup>[11]</sup>。此类反应器的混合与传质主要受单位能耗影响,即搅拌桨输入功率与工作体积或者液体体积的比值。该参数主要由反应器和搅拌桨的结构、尺寸以及搅拌转速决定。图 4 是根据文献报道<sup>[12-13]</sup>绘制的微型和小型反应器在不同搅拌转速下的混合时间和单位能耗趋势图。可以看到,由于尺寸的不同,两种反应器在相同搅拌转速下的数据有 1 到 2 个数量级的差别。微型反应器 (A) 虽然体积较小,但在相同的搅拌转速下,混合时间反而比小型反应器 (B) 还长。这一点在对两者之间的操作条件转换时,以及将微型反应器数据用于规模放大时,需要格外注意。

### 3.2 振荡式微型反应器

Weiss 等<sup>[14]</sup>对 96 微孔板反应器内的混合进行了实验研究和模型分析,发现混合时间受振荡频率、振荡直径以及装液量的影响非常明显。但是由于设备体积太小,实验数据误差较大。Dürauer 等<sup>[15]</sup>使用黏土/聚合物法和量热法对 6、24、96 孔板内的单位能耗进行了估计并与台式以及中试反应器进行了比较。发现不同规格的微孔板之间有较大的差异,其中 96 孔板内的剪切力与台式或中试反应器要低很多。对剪切力较为敏感的体系,在不同种类的反应器中培养时,可能会因此得到不同的结果。

振荡对微孔反应器内气液传质的作用主要取决于气液界面的拉伸,具体说来是离心力与表面张力的共同作用决定的<sup>[15-17]</sup>。对于同一台设备和反应体系,存在一个临界转速  $N_c$ ,当转速低于  $N_c$  时,液体表面不发生形变。当转速大于  $N_c$  时,液体表面逐渐被拉伸,直至达到更高转速后发生溢出的情况。一般微孔反应器操作在 2.5 倍于重力的离心加速度时气液界面与水平成  $45^\circ$  角,传质面积最大、传质效果最好<sup>[18]</sup>。但由于此最大界面面积是固定的,装液量越高则单位体积的传氧速率越低。从图 5 给出的 m2p-labs 花瓣孔板在不同振荡转速和装液量下能达到的最高传氧速率云图可以清楚地看到这一现象。

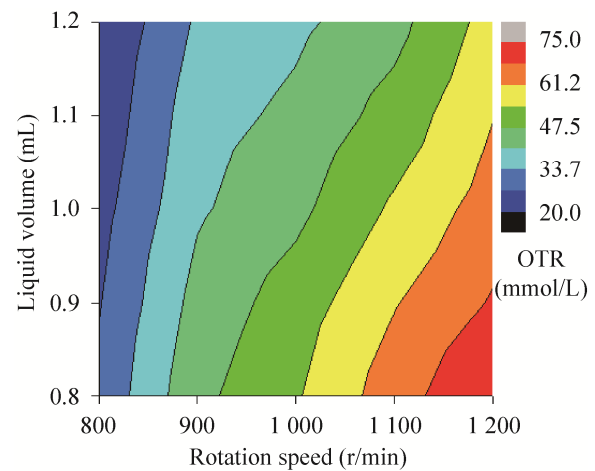


图 5 m2p-labs 花瓣孔板在不同装液量和振荡转速下能达到的最大传氧速率 (OTR)

Fig. 5 Maximum oxygen transfer rate (OTR) achievable in PowerPlate® at different rotation speeds and filling volumes.

## 4 微型生物反应器的应用现状及展望

### 4.1 当前微型反应器的典型应用

现阶段的生物技术产业,尤其是发酵工业,大部分仍在沿用半个多世纪以来确立的初选、复选,工艺开发与优化、验证,中试、放大这个传统路线,如图 6 所示。在这个过程中,每一个步骤都采用不同的反应器设备,具有不同的传质与混合性能。其中,初选、复选、培养基优化等操作往往是在没有 pH 及溶氧传感器、不能连续补料、无法精确控制培养条件的孔板和摇瓶内实现<sup>[19]</sup>,细胞生长的微环境与最终的规模化生产相去甚远。由于生化反应都是细胞本身与环境因素共同作用的结果,这个路线存在错选、漏选的天然缺陷。采用微型生物反应器时,从初选就开始对环境参数精确测量和控制,可以同时保证数据的质和量,实现快速工艺开发。如果说高通量本身是量的突破,那么利用微型生物反应器在与规模化生产相似的情况下进行筛选和工艺研发,进而避免选出实际应用时表现不佳的细胞和菌株,则是一个质的飞跃。最近,我们使用 300 mL 八联平行反应器 (图 1) 对代谢改造枯草芽孢杆菌非甲羟戊酸途径提高维生素 K2 产量进行建模优化后,直接放大到 50 L 中试规模,获得了较优

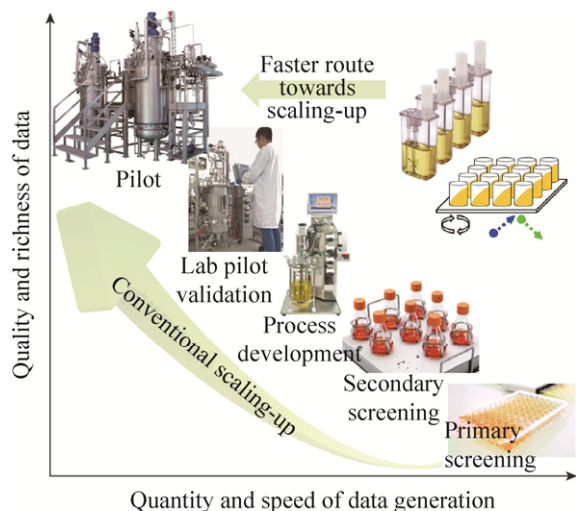


图6 传统生物工艺研发与微型生物反应器的比较  
Fig. 6 Comparison between conventional bioprocess development and mini-/micro-bioreactor system.

的结果, 为其进一步工业化生产奠定了基础<sup>[20]</sup>。Delouvroy 等<sup>[21]</sup>将中华仓鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary, CHO)细胞在 Sartorius ambr<sup>®</sup> 48 小型反应器中表达重组单克隆抗体的性能与 2 L 玻璃罐及 80 L 和 400 L 不锈钢罐进行了比较, 得到了十分接近的结果。类似的应用还有很多<sup>[22-23]</sup>, 本质上都是对经典路线的修补, 最终目的仍然要实现过程与装备的放大, 限于篇幅本文不再详细介绍。下文着重对微型反应器的颠覆性应用进行展望。

#### 4.2 微型反应器的未来应用

过去提到瘟疫时人们常与科学技术和医疗水平低下联系起来。然而在科技高度发达的今天, 烈性传染病暴发却展现出越来越频繁的趋势。疫苗, 以及其他通过生物技术生产的中、西药有效成分, 是应对瘟疫的重要手段。但传统的生物医药研发流程步骤多、周期长, 在应对突发事件时已经越来越力不从心。在这一领域, 高通量微型生物反应器已经开始并将继续发挥越来越重要的作用<sup>[24]</sup>。即便是其他类型的慢性病, 因个体差异导致的对同一药物的不同反应也使传统医学“对症下药”这一黄金准则受到“精准医疗”这个新概念的挑战。精准医疗不仅包括针对病患个体特

征制订诊疗方案, 也包括针对特定人群定制独特的医药产品。以微型生物反应器为核心的智能工厂和灵活生产车间在极少的人工干预下, 配合治疗方案生产所需医药产品<sup>[25]</sup>。这一思路, 将替代大规模生产同一药物的传统路线。

我们常说 21 世纪是生物技术的世纪。但其实现过程可能不是通过现有生物产业自我升级, 而是由掌握了大数据的企业进入生物、医疗领域并开拓出全新的市场。现有的大宗生物医药制品, 在新的模式下将有可能沦为利润微薄的原材料和半成品。为了适应这个趋势, 作为生物制造及工艺研发的核心装备, 生物反应器必须向小型化、智能化、柔性化以及高通量发展, 规模放大不再必要。其中小型化是实现高通量和柔性化的前提。

## 5 结语

经过 20 多年的发展, 微型生物反应器技术已经相对成熟, 目前的相关研究以应用开发为主, 包括对传统生物制品工艺开发的提速, 以及为未来基于大数据和人工智能等技术的数据驱动型生物产业提供硬件支持。但其核心技术, 尤其是微型光学传感器技术绝大部分都还掌握在以欧洲为主的海外企业, 进口品牌垄断了国内高端市场, 攫取了高额利润。事实上, 即便是常规生物反应器, 我国也严重依赖进口配件, 尚不能实现完全自力更生。这使我国的生物产业, 尤其是关乎人民生命健康的生物医药行业, 在当前动荡的国际局势下处于危险的境地。本文系统介绍了微型生物反应器关键技术, 希望能为国内装备的制造企业提供参考。本文还阐述了微型生物反应器目前的典型应用, 并对其在下一代生物医药产业中将要发挥的作用进行了展望。

## REFERENCES

- [1] American Chemical Society National Historic Chemical Landmarks. Penicillin production through

- deep-tank fermentation[EB/OL]. [2020-03-24]. <http://www.acs.org/content/acs/en/education/whatischemistry/landmarks/penicillin.html>.
- [2] Rolf MJ, Lim HC. Computer control of fermentation processes. *Enzym Microb Technol*, 1982, 4(6): 370–380.
- [3] Wong BG, Mancuso CP, Kiriakov S, et al. Precise, automated control of conditions for high-throughput growth of yeast and bacteria with eVOLVER. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(7): 614–623.
- [4] Li XL, Zhang GQ, Zhao XR, et al. A conceptual air-lift reactor design for large scale animal cell cultivation in the context of *in vitro* meat production. *Chem Eng Sci*, 2020, 211: 115269.
- [5] Junne S, Neubauer P. How scalable and suitable are single-use bioreactors? *Curr Opin Biotechnol*, 2018, 53: 240–247.
- [6] Mills PL, Nicole JF. Multiple automated reactor systems (MARS). 2. Effect of microreactor configurations on homogeneous gas-phase and wall-catalyzed reactions for 1,3-butadiene oxidation. *Ind Eng Chem Res*, 2005, 44(16): 6453–6465.
- [7] Wei Y. Study on the injection-molding process of polystyrene[D]. Weinan: Weinan Normal College, 2015 (in Chinese).  
魏阳. 聚苯乙烯注塑成型工艺的研究[D]. 渭南: 渭南师范学院, 2015.
- [8] Lübbers DW, Opitz N. Optical fluorescence sensors for continuous measurement of chemical concentrations in biological systems. *Sensors Actuat*, 1983, 4: 641–654.
- [9] Wolfbeis OS, Posch HE, Kroneis HW. Fiber optical fluorosensor for determination of halothane and oxygen. *Anal Chem*, 1985, 57(13): 2556–2561.
- [10] Gruber P, Marques MPC, Szita N, et al. Integration and application of optical chemical sensors in microbioreactors. *Lab Chip*, 2017, 17(16): 2693–2712.
- [11] Li XH, Scott K, Kelly WJ, et al. Development of a computational fluid dynamics model for scaling-up ambr bioreactors. *Biotechnol Bioproc Eng*, 2018, 23(6): 710–725.
- [12] Nienow AW, Rielly CD, Brosnan K, et al. The physical characterisation of a microscale parallel bioreactor platform with an industrial CHO cell line expressing an IgG4. *Biochem Eng J*, 2013, 76: 25–36.
- [13] Jiao P. A mini-bioreactor based platform for secondary strain screening and preliminary fermentation process development. *Biotechnol Busin*, 2015, (1): 17–23 (in Chinese).  
焦鹏. 一种基于微小生物反应器的新型菌株复筛和前期发酵工艺开发平台. *生物产业技术*, 2015, (1): 17–23.
- [14] Weiss S, John GT, Klimant I, et al. Modeling of mixing in 96-well microplates observed with fluorescence indicators. *Biotechnol Progr*, 2002, 18(4): 821–830.
- [15] Dürauer A, Hobiger S, Walther C, et al. Mixing at the microscale: Power input in shaken microtiter plates. *Biotechnol J*, 2016, 11(12): 1539–1549.
- [16] Zhang H, Lamping SR, Pickering SCR, et al. Engineering characterisation of a single well from 24-well and 96-well microtitre plates. *Biochem Eng J*, 2008, 40(1): 138–149.
- [17] Hermann R, Lehmann M, Büchs J. Characterization of gas-liquid mass transfer phenomena in microtiter plates. *Biotechnol Bioeng*, 2003, 81(2): 178–186.
- [18] Duetz WA, Chase M, Bills G. *Miniaturization of Fermentations/Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 3rd ed. Washington DC: ASM Press, 2010: 99–116.
- [19] Wang YL, Liu S, Du GC, et al. Optimization of L-asparaginase fermentation medium based on artificial neural network. *Food Fermenta Industr*, 2018, 44(8): 27–33 (in Chinese).  
王云龙, 刘松, 堵国成, 等. 基于人工神经网络的L-天冬酰胺酶发酵培养基优化. *食品与发酵工业*, 2018, 44(8): 27–33.
- [20] Chen TC, Xia HZ, Cui SX, et al. Combinatorial



- methylethritol phosphate pathway engineering and process optimization for increased menaquinone-7 synthesis in *Bacillus subtilis*. *J Microbiol Biotechnol*, 2020, 30(1), In Press.
- [21] Delouvroy F, Siriez G, Tran AV, et al. ambr™ Mini-bioreactor as a high-throughput tool for culture process development to accelerate transfer to stainless steel manufacturing scale: comparability study from process performance to product quality attributes. *BMC Proc*, 2015, 9(Suppl 9): 78–81.
- [22] Ladner T, Grünberger A, Probst C, et al. Application of mini- and micro-bioreactors for microbial bioprocesses, in current developments in biotechnology and bioengineering, ed. by Larroche C, Sanromán MÁ, Du G and Pandey A, Elsevier, 2017: 433–461.
- [23] Janakiraman V, Kwiatkowski C, Kshirsagar R, et al. Application of high-throughput mini-bioreactor system for systematic scale-down modeling, process characterization, and control strategy development. *Biotechnol Prog*, 2015, 31(6): 1623–1632.
- [24] Jiao P, Chen BQ. Advanced bioprocess development and biomanufacturing technologies in high throughput miniature bioreactors. *Eng Sci*, 2016, 18(4): 44–50 (in Chinese).  
焦鹏, 陈必强. 新一代生物工艺研发与制造技术及高通量微型生物反应器. *中国工程科学*, 2016, 18(4): 44–50.
- [25] Building facilities of the future: This collaboration reimagines what's possible in biopharmaceutical manufacturing[EB/OL]. [2020-05-09]. <https://www.gehealthcare.com/article/building-facilities-of-the-future-this-collaboration-reimagines-whats-possible-in-biopharmaceutical-manufacturing/>.

(本文责编 郝丽芳)