

Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева

На правах рукописи

**Батыргазиева Диана Рафаэлевна**

**ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС В ОБЛАСТИ  
ПРЕБИОТИКОВ И ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК  
МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

2.3.1. Системный анализ, управление и обработка информации

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата технических наук

Научный руководитель

доктор технических наук,

профессор

Н.В. Меньшутина

**Москва – 2021**

## Оглавление

Введение.....	4
Глава 1. Литературный обзор.....	13
1.1 Современное оборудование для культивирования клеток млекопитающих.....	13
1.1.1 Биореакторы для культивирования клеток млекопитающих суспензионным способом.....	14
1.1.2 Биореакторы для культивирования клеток млекопитающих адгезивным способом.....	19
1.1.3 Микрофлюидное оборудование для культивирования клеток млекопитающих.....	24
1.2 Варианты построения информационных систем для хранения и обработки данных .....	31
1.2.1 Локальные информационные системы .....	35
1.2.2 Клиент-серверные информационные системы .....	37
1.3 Математическое моделирование кинетики роста культуры клеток млекопитающих на микроносителе с использованием клеточно-автоматного подхода .....	39
1.4 Моделирование гидродинамики в биореакторе для культивирования клеток млекопитающих .....	41
1.5 Постановка задачи исследования .....	50
Глава 2. Системный анализ области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих.....	51
2.1 Системный анализ области культивирования клеток млекопитающих.....	52
2.2 Системный анализ области исследований пребиотической активности ....	62
2.3 Общая стратегия достижения целей исследования .....	63
Глава 3. Информационная часть информационно-аналитического комплекса....	66

3.1	Создание базы данных «Система культивирования клеток млекопитающих».....	66
3.1.1	Структуризация данных. Проектирование концептуальной модели базы данных .....	66
3.1.2	Проектирование инфологической и физической моделей базы данных ....	69
3.2	Создание базы данных «Исследования эффективности пребиотиков» .....	77
3.3	Разработка локальной информационной системы в области культивирования клеток млекопитающих.....	83
3.4	Разработка клиент-серверной информационной системы для поиска информации о пробиотиках и активности пребиотиков.....	99
Глава 4.	Аналитическая часть информационно-аналитического комплекса.....	103
4.1	Аналитический блок по прогнозированию кинетики роста клеток млекопитающих на микроносителе.....	103
4.1.1	Математическое моделирование процесса роста культуры клеток млекопитающих на микроносителе с использованием клеточно-автоматного подхода .....	103
4.1.2	Программный модуль для расчета жизненного цикла клеточной культуры.....	113
4.2	Аналитический блок по моделированию процессов культивирования клеток млекопитающих в биореакторах .....	117
4.2.1	Математическое моделирование гидродинамических потоков питательной среды внутри биореактора в среде Ansys Fluent .....	117
4.2.2	Расчет характеристического размера турбулентных вихрей и подбор предельной скорости перемешивания в биореакторе .....	127
	Выводы .....	130
	Список литературы .....	132
	Приложение 1. Свидетельства о государственной регистрации программ для ЭВМ и баз данных. Акт апробации информационной системы .....	148

## Введение

Одним из актуальных направлений инновационного развития является совершенствование биотехнологической и химической промышленности. Создание новых подотраслей промышленности, нацеленных на выпуск современных биотехнологических продуктов; поддержка и развитие медицины и фармацевтики; разработка инновационных технологий и оборудования – все это находится в фокусе пристального внимания всего мирового сообщества. Главным вопросом развития современной биотехнологической промышленности является расширение ассортимента биомедицинских продуктов, необходимых для улучшения качества жизни. Новые препараты являются плодом длительной научно-исследовательской работы. Мировой наукой накоплено большое количество информации в области биотехнологии, в том числе по отдельным направлениям биомедицины и промышленной биотехнологии, однако эта информация достаточно разрозненна и рассеяна по различным источникам, не систематизирована и не структурирована в данной области знаний. Поскольку исследовательская деятельность является не только наукоемкой, но и дорогостоящей, возникает острая необходимость в разработке эффективных инструментов для систематизации и структурирования информации.

Одним из вариантов решения данной задачи является разработка информационно-аналитического комплекса (ИАК), позволяющего хранить, обрабатывать и систематизировать данные в области биотехнологии для проведения научно-исследовательских работ. Создание информационных систем позволяет накапливать существующий опыт и применять его в процессе разработки инновационных технологий. Внедрение и развитие информационных технологий в биотехнологическую и смежные отрасли является актуальной научной проблемой, решение которой призвано обеспечить реализацию государственных целевых программ не только по направлению развития области биотехнологии в Российской Федерации, но и по направлению «Цифровая экономика РФ – 2024». Актуальность работы дополнительно подтверждается ее

выполнением в рамках проекта Министерства науки и высшего образования РФ (грант № 075-15-2020-792).

В данной работе проведен системный анализ области исследований пребиотической активности и процессов культивирования клеток млекопитающих на лабораторном и промышленном уровнях, разработан информационно-аналитический комплекс, позволяющий систематизировать экспериментальные данные и моделировать исследуемые процессы в биотехнологической области. Особое внимание уделено разработке оригинальных алгоритмов по подбору условий проведения процесса культивирования клеток млекопитающих и моделированию роста клеток на поверхности микроносителя с помощью клеточно-автоматного подхода.

**Целью диссертационной работы** является разработка информационно-аналитического комплекса, позволяющего систематизировать данные в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих, хранить, обрабатывать и анализировать их.

**Для достижения заданной цели поставлены следующие научно-технические задачи:**

1. Проведение системного анализа области исследований пребиотической активности и процессов культивирования клеток млекопитающих на лабораторном и промышленном уровнях.

2. Разработка архитектуры и программная реализация базы данных для хранения экспериментальных данных об исследованиях пребиотической активности и процессах культивирования клеток млекопитающих. Создание информационных систем в соответствующих областях.

3. Разработка и программная реализация алгоритма, позволяющего принимать решение по подбору системы культивирования клеток млекопитающих.

4. Создание компьютерной модели (цифрового двойника) кинетики роста клеток млекопитающих на микроносителе с использованием клеточно-автоматного подхода.

5. Разработка математической модели гидродинамических потоков питательной среды внутри суспензионного биореактора, решение уравнений с помощью программного пакета Ansys Fluent, подбор режима работы биореактора.

**Научная новизна заключается в следующем:**

- Разработан проблемно-ориентированный информационно-аналитический комплекс по принятию решений в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих, включающий:

- информационную систему в области культивирования клеток млекопитающих;
- информационную систему «Исследования эффективности пребиотиков»;
- аналитический блок по прогнозированию кинетики роста клеток млекопитающих на микроносителе;
- аналитический блок, связанный с моделированием процессов культивирования в биореакторах.

- Разработаны инфологические модели представления данных и структуры проблемно-ориентированных информационных систем в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих.

- Разработан и программно реализован алгоритм, позволяющий принимать решение по подбору системы культивирования клеток млекопитающих.

- Создана компьютерная клеточно-автоматная модель по прогнозированию кинетики роста клеток млекопитающих на микроносителе, содержащая оригинальный алгоритм решения и модуль визуализации процесса.

- Создана математическая модель гидродинамических потоков питательной среды в биореакторе, учитывающая изменение параметра процесса (скорость вращения мешалки), позволяющая прогнозировать и рекомендовать эффективный режим ведения процесса.

**Практическая значимость:**

- Программно реализован оригинальный информационно-аналитический комплекс по принятию решений в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих.

- Разработано пользовательское приложение для работы с информационной системой в области культивирования клеток млекопитающих в среде разработки программного обеспечения Microsoft Visual Studio с применением языка программирования C# (NET Framework), которое может быть использовано для исследовательских целей.

- Разработан и реализован веб-интерфейс для работы с информационно-поисковой системой «Исследования эффективности пребиотиков», позволяющий пользователю в режиме онлайн получать необходимую информацию об исследованиях пребиотической активности.

- Программно реализована компьютерная клеточно-автоматная модель кинетики роста клеток млекопитающих на микроносителе, содержащая оригинальный алгоритм решения и модуль визуализации процесса.

- Программно реализована модель гидродинамических потоков внутри суспензионного биореактора в программном пакете Ansys Fluent, позволяющая широкому кругу пользователей подбирать наиболее эффективный режим ведения процесса культивирования клеток млекопитающих с учетом скорости вращения мешалки.

На разработанные базы данных (БД), информационную систему (ИС) и программу для ЭВМ получены свидетельства о государственной регистрации. Разработанные база данных и информационная система в области культивирования клеток млекопитающих апробированы в практической работе компании ООО «Клеточные Системы» (приложение 1). База данных и информационная система «Исследования эффективности пребиотиков» апробированы и переданы на кафедру биотехнологии РХТУ им. Д. И. Менделеева.

### **Методология и методы исследования**

При разработке информационной части информационно-аналитического комплекса были использованы методы системного анализа, современные методы обработки и хранения информации, использовалась методология системного подхода к созданию информационных систем и баз данных.

При разработке аналитической части информационно-аналитического комплекса были использованы методы математического и компьютерного моделирования, методы визуализации данных, клеточно-автоматный подход, методы механики сплошных сред.

### **Положения, выносимые на защиту:**

Системный анализ области исследований пребиотической активности и процессов культивирования клеток млекопитающих на лабораторном и промышленном уровнях.

Инфологические модели баз данных и программная реализация информационных систем в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих.

Оригинальный алгоритм обработки информации, позволяющий принимать решение по подбору системы культивирования клеток млекопитающих.

Аналитический блок, содержащий алгоритм для прогнозирования кинетики роста клеток млекопитающих на микроносителе с использованием клеточно-автоматного подхода.

Аналитический блок для определения эффективного режима ведения процесса культивирования клеток млекопитающих на микроносителе с учетом скорости вращения мешалки в исследуемом объеме.

### **Достоверность и обоснованность полученных результатов**

Достоверность результатов диссертационного исследования обоснована корректностью математических моделей, основанных на фундаментальных уравнениях баланса массы, применением клеточных автоматов для расчета кинетики и визуализации роста клеток на поверхности микроносителя, хорошим согласованием расчетных и экспериментальных данных, согласованностью результатов работы с опубликованными данными других авторов. Основные результаты работы опубликованы в ведущих рецензируемых научно-технических журналах и материалах конференций.

### **Апробация работы**

Результаты диссертационной работы представлены на различных международных и всероссийских научных конференциях, среди которых

Международная научно-междисциплинарная конференция GeoConference SGEM (Албена, Болгария, 2018 г., 2019 г.), Международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2017 г.), Международные конгрессы молодых ученых по химии и химической технологии (Москва, 2016-2019 гг.), Международный конгресс химико-технологических процессов CHISA (Прага, Чехия, 2018 г.), Объединенный научный форум: VI Съезд биохимиков России (Дагомыс, 2019 г.).

### **Публикации**

Основные результаты исследований опубликованы в 14 печатных работах, из них 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК, 5 статей, индексируемых в Web of Science и Scopus. На разработанные программные обеспечения оформлены 4 свидетельства о государственной регистрации программ для ЭВМ и баз данных.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа состоит из введения, 4 глав, заключения, 1 приложения и содержит 147 страниц основного текста, 84 рисунка, 3 таблицы и список литературы из 152 наименований.

**В первой главе** проведен анализ научно-технической литературы. Рассмотрены современные биотехнологические установки, используемые для культивирования адгезивного и суспензионного типов клеток млекопитающих. Особое внимание уделено одноразовым биореакторам, одному из наиболее перспективных типов оборудования, а также инновационным микрофлюидным установкам, называемым «лабораторией на чипе». Рассмотрены различные варианты построения информационных систем для хранения и обработки экспериментальных данных в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих. В последней части обзора приведено описание применения клеточно-автоматного подхода в области биотехнологии. Проанализированы научно-исследовательские работы, посвященные прогнозированию процесса роста клеточных культур на поверхности микроносителей. Рассмотрены особенности построения математических моделей на основе механики сплошных сред. Описаны методы вычислительной

гидродинамики, а также приведены различные модели турбулентности, заложенные в программные пакеты, предназначенные для моделирования физико-химических процессов. Приведены примеры использования вычислительной гидродинамики для моделирования биотехнологических процессов. На основании литературного обзора сформулированы задачи диссертационной работы и предложена стратегия их решения.

**Вторая глава** отражает результаты проведенного системного анализа предметной области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих. Проведена работа по систематизации большого объема данных, полученных в результате многочисленных исследований по всему миру в области культивирования клеток млекопитающих. Определены и структурированы основные связи между ключевыми объектами. С учетом принципиальных различий разработана классификация соответствующих технологических решений и аппаратуры. Классификация основывается на мнениях экспертов – специалистов в области клеточных технологий и биотехнологии. На основании проведенного системного анализа было принято решение о разработке информационно-аналитического комплекса, позволяющего систематизировать данные в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих, хранить, обрабатывать и анализировать их.

**В третьей главе** приведены инфологические модели представления данных и структуры проблемно-ориентированных информационных систем в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих. Показано применение методологии объектно-ориентированного программирования и рассмотрены средства построения клиент-серверных приложений. Подробно описаны все модули систем, а также приведены рисунки, иллюстрирующие работу информационных систем и баз данных как в приложении, так и в онлайн-формате. Представлен алгоритм, позволяющий принимать решение по подбору системы культивирования клеток млекопитающих. Разработан графический интерфейс для работы с Информационной системой в области культивирования клеток млекопитающих, реализованный с помощью программного продукта Microsoft

Visual Studio 2015 ОС Windows 10. Для работы с базой данных «Исследования эффективности пребиотиков» было разработано веб-приложение, позволяющее пользователю в режиме онлайн получать необходимую информацию об исследованиях пребиотической активности. Серверная часть была реализована с помощью языка программирования Python и фреймворка Django, клиентская часть с помощью HTML+CSS+JavaScript, также библиотеки Vue.js. Доступ к веб-приложению осуществляется через браузер (например, Internet Explorer, Edge, Safari, Firefox или Chrome). В браузере можно открыть веб-страницу, указав в адресной строке URL-адрес: <https://rs-pharmcenter.com/rnf2019/db2/index.html?page=1>. Данные, полученные с помощью проблемно-ориентированных информационных систем в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих, были использованы для дальнейшего математического моделирования исследуемых процессов.

**Четвертая глава** содержит описание аналитического блока, разработанного ИАК. Первая часть блока посвящена исследованию процесса культивирования клеток млекопитающих на микроуровне, а именно моделированию роста клеток млекопитающих на поверхности микроносителя с использованием клеточно-автоматного подхода. В качестве примера был рассмотрен процесс культивирования мезенхимальных стромальных клеток Madin Darby Canine Kidney (MDCK) на поверхности декстранового микроносителя Cytodex 1 (180 мкм) в суспензионном биореакторе Sartorius VBI Systems объемом 5 л.

Для прогнозирования кинетики роста клеток млекопитающих на поверхности микроносителя был разработан алгоритм работы созданной клеточно-автоматной модели. Данный алгоритм описывает жизненный цикл роста клеток млекопитающих на поверхности одного микроносителя с учетом особенностей фаз роста. На основании разработанного алгоритма был создан программный комплекс в виде консольного приложения для расчета кинетики и визуализации роста клеток на поверхности микроносителя. Разработанная клеточно-автоматная модель позволяет моделировать кинетику роста клеток на микроносителе с возможностью варьирования: размеров и формы геометрии микроносителя, первоначальной

концентрации посева клеточных культур и концентрации микроносителей в рассматриваемой системе.

Вторая часть аналитического блока посвящена исследованию процесса культивирования клеток млекопитающих на макроуровне, а именно моделированию гидродинамических потоков питательной среды в биореакторе. Для описания режима движения внутренних потоков среды при культивировании клеток млекопитающих на поверхности микроносителя в суспензионном биореакторе (Sartorius VBI Systems, 5 л) использовалась многофазная модель Эйлера, встроенная в пакет программы Ansys Fluent. Для оценки турбулентности потоков внутри биореактора была выбрана модель  $k-\varepsilon$ , которая позволяет провести вычисления скорости диссипации энергии по объему аппарата и оценить уровень механического стресса клеток в аппарате.

Таким образом, аналитический блок разработанного ИАК позволяет моделировать исследуемые процессы в биотехнологической области и рекомендовать эффективные параметры ведения процесса. Созданное программное обеспечение для прогнозирования кинетики роста клеток на поверхности микроносителя и моделирование гидродинамических потоков питательной среды в биореакторе с помощью программного пакета Ansys Fluent позволяет полноценно исследовать процесс культивирования клеток, не прибегая к натурному эксперименту, что значительно экономит время и средства для проведения экспериментальных исследований.

### **Благодарности**

Автор выражает глубокую благодарность научному консультанту работы к.т.н., доценту Е. В. Гусевой за помощь в подготовке диссертации и консультации в области биотехнологии; сотрудникам международного учебно-научного центра трансфера фармацевтических и биотехнологий; сотрудникам кафедры биотехнологии, в частности, к.т.н., доценту Б. А. Кареткину за консультации в области исследований пребиотической активности.

## Глава 1. Литературный обзор

### 1.1 Современное оборудование для культивирования клеток млекопитающих

Основной задачей биореактора является обеспечение стабильных и воспроизводимых условий, создающих эффективный рост клеток и высокую производительность [1]. Значительное влияние на результат культивирования оказывает тип и конструкция биореактора [2]. В общем случае биотехнологическое оборудование для культивирования клеток можно классифицировать [3]:

- по способу подвода энергии и аэрации в аппарате: реакторы с вводом энергии в жидкую фазу (со самовсасывающей турбиной, с циркуляционным перемешиванием и с эжекционной системой), с вводом энергии в газовую фазу (барботажные, эрлифтные и барботажно-эрлифтные), и с комбинированным вводом энергии (реакторы с механическим перемешиванием и барботажем, с роторным перемешиванием и аэрацией и барботажные с циркуляционным перемешиванием);
- по конструкционным особенностям: реакторы емкостного, колонного, трубчатого, пленочного, мембранного типов, реакторы с псевдоожиженным слоем;
- по принципу работы: реакторы периодического, полунепрерывного и непрерывного действия;
- по гидродинамическому режиму: реакторы идеального перемешивания, реакторы идеального вытеснения, реакторы с промежуточным гидродинамическим режимом;
- по наличию стерильности: стерильные и нестерильные реакторы.

В последние годы активно внедряются новые технологии, совершенствуются биотехнологические процессы и модернизируется оборудование. Это напрямую связано со способностью повышать гибкость, сокращать инвестиции и ограничивать эксплуатационные расходы [4-7].

Под влиянием потребностей рынка, в частности, разработчиков и производителей лекарственных средств, вакцин и других биотехнологических

препаратов наметилась тенденция к использованию одноразовых биореакторов. Многочисленные исследования, документирующие их преимущества в использовании, способствовали дальнейшим новым разработкам и привели к появлению множества одноразовых типов биореакторов, которые отличаются по потребляемой мощности, конструкции, инструментам и масштабам культуральных сосудов [8, 9]. Новые биореакторные системы являются жизнеспособной альтернативой традиционным биореакторам для культивирования клеток [10-15]. Они должны отвечать следующим требованиям:

- обеспечение быстрого перехода между разработкой продукта и коммерциализацией;
- обеспечение быстрого запуска и легкость выполнения требований;
- снижение капитальных затрат.

В настоящее время технологии одноразового использования доминируют в производстве биофармацевтических препаратов, которые становятся все более распространенными в коммерческих производственных помещениях. Они позволяют производителям биопрепаратов уменьшить площадь своих объектов примерно на 20% из-за снижения потребности в технических услугах. Капитальные затраты для объекта одноразового использования на 25-45% меньше, чем для объекта на базе оборудования из нержавеющей стали, а время ввода в эксплуатацию может быть сокращено примерно в два раза [16].

### **1.1.1 Биореакторы для культивирования клеток млекопитающих суспензионным способом**

Разработать единую классификацию для всех типов биореакторов, доступных сегодня на рынке становится все более сложной задачей [17]. В основном классификация проводится по типу, режиму и конфигурации биореактора, непрерывной фазе, кинетике реакции, потребляемой мощности и первичному давлению. Одним из вариантов классификации является – способ культивирования: суспензионный, адгезивный и адгезивно-суспензионный.

Принципиальные схемы биореакторов с возможностью культивирования суспензионных клеточных культур представлена на рисунке 1.1 [18].

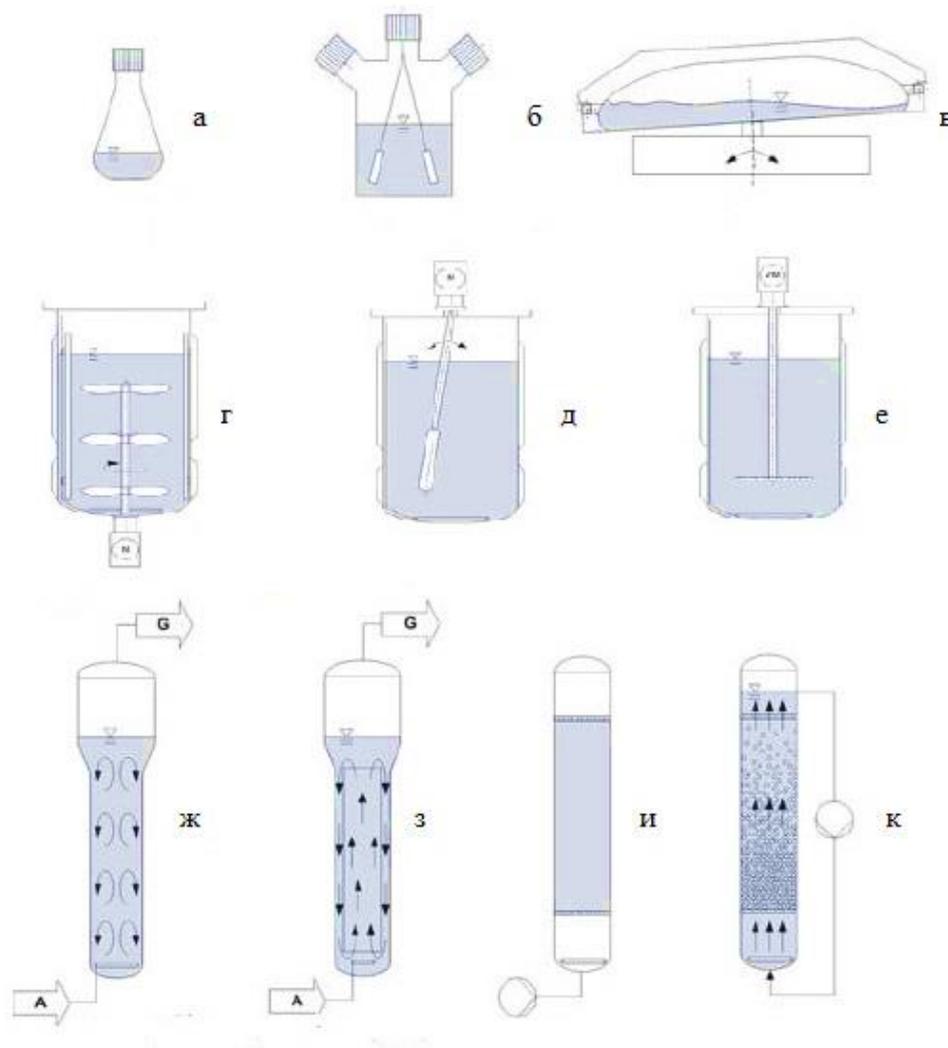


Рисунок 1.1 – Принципиальная схема биореакторов для культивирования суспензионных клеточных культур: а) колба смешения; б) колба с перемешивающим устройством; в) волновой биореактор; г) биореактор с мешалкой; д) биореактор с эксцентриковой мешалкой; е) биореактор с вибромиксером; ж) барботажный биореактор; з) эрлифтный биореактор; и) биореактор с неподвижным слоем; к) биореактор с кипящим слоем

Основными критериями для роста суспензионных клеточных культур являются такие показатели как: увеличенный перенос растворенного кислорода и уменьшенное напряжение сдвига [19, 20].

Для лабораторных исследований емкость биореакторов составляет от 15 мл до 15 литров, пилотные установки – 15-50 литров, промышленные – десятки и

сотни тысяч литров. Конструкции этих аппаратов позволяют создавать оптимальные технологические условия для быстрого роста и размножения клеток. В биореакторах тщательно контролируются и поддерживаются: pH, температура, парциальное давление кислорода, окислительно-восстановительный потенциал, аэрация, гомогенизация культуральной среды, уровень пенообразования [21].

Современные биореакторы суспензионного типа имеют универсальную систему управления, обладают возможностью подключения множества опций, благодаря богатому интерфейсу: USB, Ethernet, аналоговые и цифровые входы/выходы, и имеют удаленный контроль через веб-браузер с любого компьютера, смартфона или планшета.

На рисунке 1.2 представлен биореактор BIOSTAT® A лабораторного уровня, созданный для управления процессом культивирования клеток. Биореактор оснащен всеми системами и функциями, необходимыми для управления процессом. Также в систему входят насосы для подачи компонентов питательных сред, газовые смесители и коннекторы для подключения датчиков [22-24].



Рисунок 1.2 – Лабораторный биореактор BIOSTAT® A (5 литров)

Небольшие размеры системы позволяют сэкономить место в лаборатории. BIOSTAT® A снабжен стеклянным одностеночным сосудом с максимальным рабочим объемом 1, 2 или 5 литров. Контроллер, предназначенный для работы с 2-х литровыми сосудами UniVessel®, может быть также использован для работы с

одноразовыми сосудами UniVessel® SU 2л. Как стеклянные сосуды UniVessel®, так и одноразовые сосуды UniVessel® SU имеют классическую конструкцию биореактора с мешалкой и позволяют добиться одинаковых результатов. В качестве привода используется один и тот же двигатель, так что замена одноразовых сосудов на многоразовые и обратно может производиться без дополнительных затрат времени.

Для управления концентрацией кислорода в среде используется подача воздуха и O<sub>2</sub>. Биореактор BIOSTAT® A снабжен цифровыми датчиками pH и DO (растворенный кислород). Их использование позволяет определять неисправность датчика прямо после подключения. Кроме того, соединительные контакты снабжены водозащитными колпачками, которые позволяют защитить контакты при автоклавировании [25].

Пилотный одноразовый биореактор NuClone S.U.V. объемом 50 литров на платформе контроллеров Applikon представлен на рисунке 1.3.



Рисунок 1.3 – Пилотный одноразовый биореактор NuClone S.U.V на платформе контроллеров Applikon (50 литров)

NuClone S.U.V – это полноценный биореактор, который включает в себя одноразовые элементы, такие как: мешалку, трубки для отвода газов, барботер, стерильную емкость для добавления жидких компонентов, пробоотборник и датчики: температуры, pH и DO [26, 27]. В систему также входят такие элементы как: привод мешалки, системы нагрева/охлаждения, мобильная платформа,

система управления и внешний контроллер ez-Control или i-Control (в зависимости от сложности и степени автоматизации процесса).

На рисунке 1.4 представлен промышленный биореактор, имеющий перемешивающее устройство [28] со следующими возможными техническими характеристиками:

- рабочий объем от 50 л до 300 л;
- различная геометрия сосудов и разновидность мешалок для культивирования клеток;
- множество датчиков и опций;
- автоматическая стерилизация паром;
- возможность полной автоматизации процесса;
- все типы культивирования, включая перфузию;
- нержавеющая сталь марки 316L, электрополировка;
- мобильная платформа.

Биореактор на качающейся платформе с одноразовыми резервуарами от 1 до 600 литров представлен на рисунке 1.5.



Рисунок 1.4 – Промышленный биореактор с мешалкой



Рисунок 1.5 – Биореактор на качающейся платформе с одноразовыми резервуарами от 1 до 600 литров

Данный биореактор идеально подходит для культивирования клеток, чувствительных к механическому стрессу (клетки млекопитающих). Он обладает простой масштабируемостью (от колбы до сотен литров), имеет одноразовые оптические или автоклавируемые датчики, а также имеется возможность проведения стерилизации на месте.

Широкий ассортимент биореакторов позволяет культивировать клетки различным способом и в различных масштабах, соблюдая при этом все необходимые условия подбора надежных критериев масштабирования, обеспечивающих разработку высокоэффективных и экономичных технологий промышленного производства целевого продукта [29-31].

### **1.1.2 Биореакторы для культивирования клеток млекопитающих адгезивным способом**

Производительность при культивировании адгезивных культур клеток значительным образом зависит от площади поверхности подложки, на которой растут клетки. К оборудованию данного типа относят:

- культуральные флаконы и планшеты;
- биореакторы на основе многослойных культуральных флаконов (матрасы);
- роллерные установки;
- биореакторы с микроносителями;
- мембранные биореакторы.

На начальных этапах культивирования адгезивных клеточных культур применяются плоские статические системы, например, флаконы с плоским дном (рисунок 1.6). Их конструкция довольно простая – одно- или многоуровневые флаконы, в которые через крышку помещается клеточная масса и питательные вещества [32, 33].

Главный недостаток данного типа биореактора – неспособность к культивированию большого количества клеток вследствие ряда ограничений: низкая степень сродства клеток к поверхности флакона, отсутствие возможностей

контроля температуры, pH и прочих условий протекания процесса, низкая степень асептичности. В последние годы ряд компаний улучшили конструкционные возможности флаконов с плоским дном путем добавления систем измерения параметров, однако это несильно повышает степень эффективности культивирования клеток в данном типе биореакторов.



Рисунок 1.6 – Культуральный флакон с плоским дном

Одним из первых в мире биореактором с полным циклом производства, высокой плотностью клеток, в котором сочетаются достоинства одноразовых технологий и преимущества систем с неподвижным слоем, является биореактор iCELLis (рисунок 1.7) [34, 35].



Рисунок 1.7 – Биореактор iCELLis 500 с полным циклом производства

В качестве основной технологии биореактора iCELLis используется компактный неподвижный слой, заполненный специальными макроносителями. Основа изготавливается из полиэфирного микроволокна медицинского назначения, благодаря чему в объеме всего лишь 25 л получается до 500 м<sup>2</sup> полезной площади для роста клеток. Эта поверхность является эквивалентом 3000

роллерных флаконов (площадью 1700 см<sup>2</sup> каждый). Использование этой технологии также упрощает деликатные и требующие больших затрат времени ручные операции, уменьшает общую длительность производственного цикла и делает более надежным процесс культивирования адгезивных клеточных культур. Равномерное распределение циркуляционной среды достигается встроенной крыльчаткой с магнитным приводом, которая обеспечивает сниженное механическое воздействие и высокую жизнеспособность клеток.

В биофармацевтической промышленности широко используется оборудование, в котором культивирование клеточных линий осуществляется на поверхности микроносителей различной геометрии. Данные микроносители находятся внутри аппарата с питательной средой во взвешенном состоянии. Метод культивирования отличается тем, что клетки прикрепляются и размножаются на поверхности полимерных микроносителей, которые находятся в суспензионном биореакторе, оснащенный перемешивающим устройством [36-38].

Данный способ культивирования подтолкнул к активному развитию технологии выращивания различных клеточных линий на микроносителях. За счет разной геометрии микроносителей и материалов, из которых они изготавливаются, развилось направление по получению микро- и макропористых микроносителей. Для увеличения концентрации клеточной культуры на выходе используют микроносители с пористой поверхностью, поскольку клетки прорастают не только на поверхности, но и внутри пор.

В зависимости от цели культивирования и вида адгезивных клеток могут использоваться как микроносители с гладкой поверхностью, так и содержащие поры. Один микроноситель в среднем имеет диаметр от 100 мкм до 250 мкм с возможностью размещения не менее 300 клеток (максимально 3000 клеток). Помимо размера микроносителя важно учитывать материал, из которого он изготовлен, поскольку большинство клеток млекопитающих обладают небольшим отрицательным зарядом, то за счет свойств материала, из которого изготавливается микроноситель, можно изменять заряд поверхности для улучшения адгезии. Важность подбора материала для изготовления микроносителей также заключается

в том, что должны быть учтены такие факторы, как: токсичность для клеток, незначительное впитывание компонентов среды и возможность стерилизации.

Для выращивания клеток млекопитающих используют различные типы материалов, однако стоит упомянуть микроносители из поперечно-сшитых: декстрана, полиакрилонитрила, целлюлозы, поливинилпирролидона, а также пористого силикагеля, капрона, полистирола, алюмосиликата и т.д. [39-41].

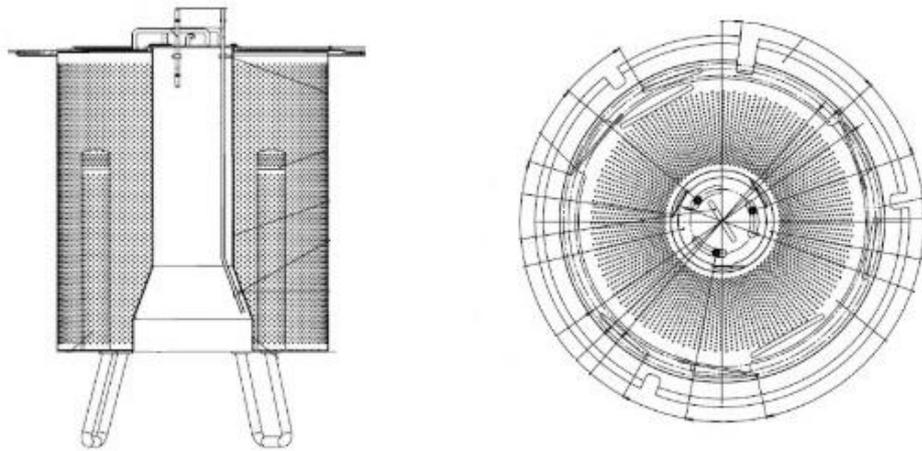
Адгезивные клеточные культуры могут размножаться монослоем (2D) на непористых подложках (например, микроносители Cytodex 1 и 3 от компании GE Healthcare, США) или в иммобилизованном виде (3D) на макропористых подложках (например, от компании Sartorius Stedium – Cultisphere S или Cytopore 2 от компании GE Healthcare, Германия) [35].

Клеточные культуры, растущие в трехмерном пространстве и иммобилизованные в макропоры подложки, оказываются более защищенными от сдвиговых напряжений, но при этом ухудшается обеспечение питательными веществами и кислородом [42].

В качестве примера данного способа культивирования на рисунке 1.8 приведено схематичное изображение биореактора из нержавеющей стали марки 316L со съемной внутренней корзиной. Инновационная конструкция, разработанная компанией «БИОТЕХНО», позволяет проводить культивирование тремя различными способами [43]:

- культивирование на микроносителях;
- культивирование на макроносителях;
- культивирование клеточной суспензии.

Данный биореактор предназначен для культивирования клеток различными способами: суспензионный (без корзины) или адгезивно-суспензионный (на микро- и макроносителях). При установленной корзине можно проводить культивирование на пористых макроносителях (диски). Данное решение впервые реализовано в биореакторах такого объема.



а) вид сбоку

б) вид сверху

Рисунок 1.8 – Схематичное изображение биореактора компании «БИОТЕХНО» для культивирования клеток различными способами

Компания «Z®RP» предоставляет уникальную технологическую платформу для быстрого и контролируемого культивирования адгезивных клеток и тканей (рисунок 1.9) [44]. Данная система соответствует стандартам GLP (Good Laboratory Practice), GCP (Good Clinical Practice) и GMP (Good Manufacturing Practice) и позволяет выращивать клетки с очень высокой плотностью упаковки, в том числе тканеподобные организации клеток, встроенные во внеклеточную матрицу.



Рисунок 1.9 – Система культивирования клеток и тканей компании Z®RP

Центральным элементом системы является вращающаяся под действием электромагнитных сил ось, на которую насажен каркас для клеток или тканей. В биореактор Z®RP могут быть установлены различные типы каркасов: от

высокопористых керамических дисков (Sponceram®) до клеточных каркасов для имплантатов. Для любых конфигураций носителей гарантирована наилучшая аэрация и питание. Плавное вращающее движение стимулирует клетки и ткани к срастанию и быстрому размножению без стрессового воздействия тангенциальных сил.

Система является идеальным инструментом для размножения и сбора эмбриональных и стволовых клеток и открывает принципиально новые перспективы для регенеративной медицины. Область терапевтического использования данного биореактора включает тканевую инженерию и даже возможность производства готовых имплантатов, изготовленных из колонизированных клеточных каркасов.

Таким образом, применение микроносителей в качестве подложек для роста адгезивных клеточных культур в биореакторах суспензионного типа, которые характеризуются своей простотой и доступностью, является одним из актуальных вопросов в области культивирования клеток млекопитающих [45-48]. Для оптимизации процесса культивирования следует рассмотреть математические модели роста клеток млекопитающих на поверхности микроносителей и внутри культурального сосуда.

### **1.1.3 Микрофлюидное оборудование для культивирования клеток млекопитающих**

Микрофлюидная система – это компактное устройство, которое оперирует жидкостями нано- и микрообъема, используя капилляры с нано- и микроразмерами [49].

Ключевые направления микрофлюидных исследований:

- *жидкостная биопсия* – диагностика и мониторинг онкологических заболеваний;
- *органы-на-чипе* – динамическое комплексное микрофлюидное моделирование развития патологий различных органов человеческого организма и проведения доклинических и клинических исследований лекарственных

препаратов, персонализированная медицина, создание имплантатов из собственных клеток;

- *эко-на-чипе* – динамическое микрофлюидное моделирование процесса оплодотворения и развития эмбриона в живом организме;
- *синтез фармацевтических субстанций*;
- *микрофлюидная инкапсуляция* – получение уникальных «интеллектуальных» препаратов таргетного и пролонгированного действия на различные виды патологий.

#### *Жидкостная биопсия для диагностики онкологических заболеваний*

Жидкостная биопсия является новым направлением в диагностике раковых заболеваний и мониторинга применяемой терапии на основе неинвазивных анализов крови для выявления биомаркеров у больных онкологическими заболеваниями.

Преимущества жидкостной биопсии:

- своевременное обнаружение опухоли;
- регулярный мониторинг проводимой противораковой терапии;
- экономия затрат и времени;
- персонифицированный подход к каждому больному (индивидуальный подбор лекарств и методов лечения).

Для эффективного исследования отдельных вариантов течения заболевания были разработаны полностью автоматизированные системы «жидкостной биопсии» с целью выделения единичных опухолевых клеток (ЕОК) из крови пациента [49-51]. Одним из примеров таких систем является система CTCselect (рисунок 1.10), разработанная Институтом интегральных схем общества Фраунгофера. На первом этапе «вылавливаются» опухолевые клетки из сывороточного образца с помощью иммуномагнитного разделения и затем экстракт переносится в микрожидкостной картридж (рисунок 1.11), в котором опухолевые клетки выявляются методом проточной цитометрии с целью удаления неспецифического клеточного фона.



Рисунок 1.10 – Система «CTSelect» для автоматического определения и выделения ЦОК



Рисунок 1.11 – Микрочип (картридж) системы «CTSelect»

С помощью гидродинамической фокусировки образца в картридже может быть достигнута почти идеальная изоляция клеток. После обнаружения опухолевой клетки в микроканале единичные клетки распределяются непосредственно в полости пластины микротиттера импульсом давления. Затем каждая изолированная опухолевая клетка может быть исследована на предмет ее генетических и молекулярно-биологических характеристик. Системы CTSelect также могут применяться для анализа воды, проведения тестов в гематологии, инфектологии и иммунологии.

#### *Органы-на-чипе / Проведение доклинических исследований лекарственных препаратов*

Микрофлюидная технология «Орган-на-чипе» – решение, которое реализуется в виде чипов с микрокапиллярами. Данная технология позволяет соединять между собой разные стадии лабораторных процедур и производить разные манипуляции с единичными клетками (рисунок 1.12) [52-55].

Полости внутри чипа имитируют конкретную структуру ткани органа, например, миниатюрные воздушные мешочки в легких. Воздух, проходящий через эти каналы, может очень точно моделировать человеческое дыхание. Данная технология позволяет ученым видеть биологические механизмы и физиологическое поведение определенного человеческого органа при воздействии тестируемого лекарственного средства или других фармацевтических соединений [56].

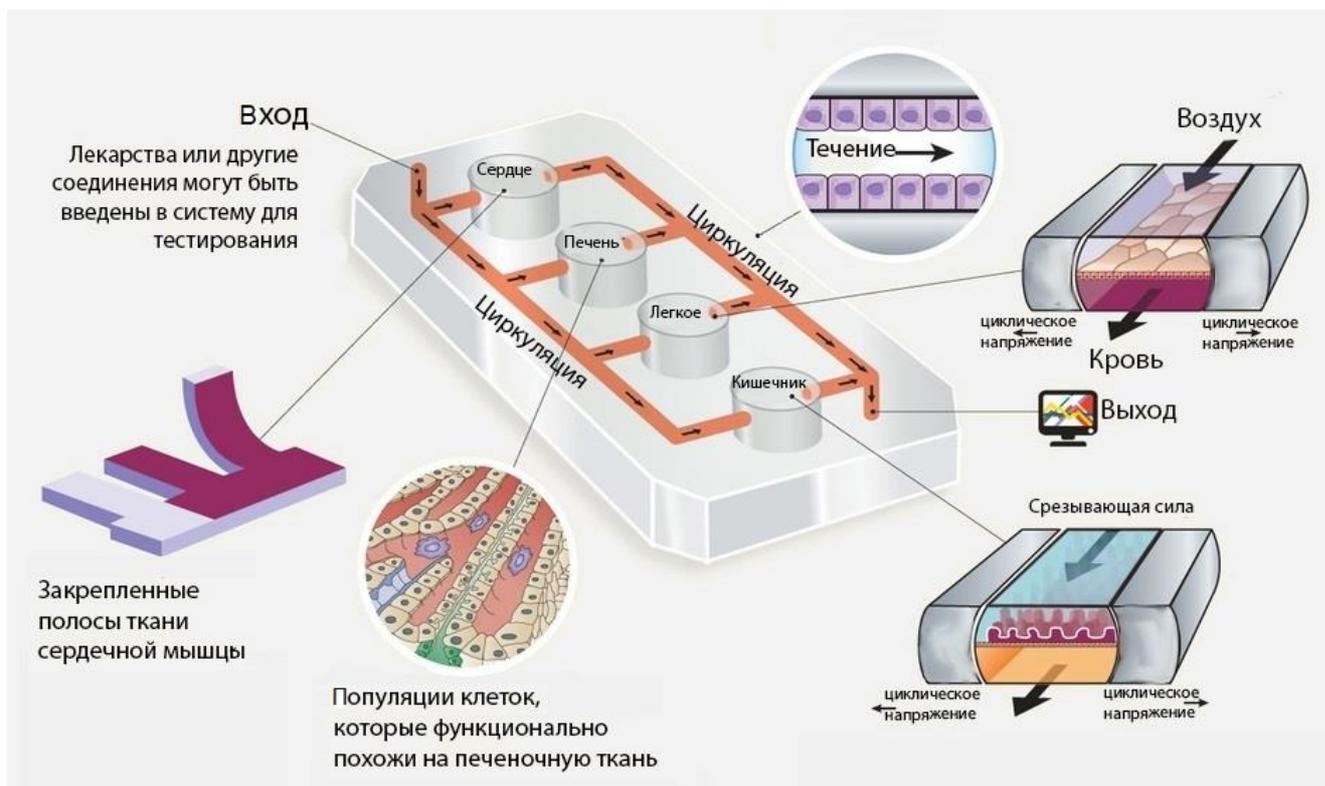


Рисунок 1.12 – Концептуальное представление органов человека на чипе

Таким образом, данные миниатюрные устройства позволяют проводить реалистичные и точные испытания новых лекарств, потенциально представляя собой недорогие альтернативы традиционным моделям животных для фармацевтической, химической и медицинской областей применений [57].

### *Инкапсуляция*

Инкапсуляция – это иммобилизация активных компонентов во внешней оболочке. Активными компонентами могут быть лекарственные вещества, ферменты, ароматизаторы, красители, масла, клетки прокариот и эукариот. Такой способ позволяет культивировать клетки изолированно друг от друга, аналогично культивированию на субстрате, но с гораздо большей скоростью и с возможностью сортировки в автоматическом режиме [58].

В клинических исследованиях и медицинских практиках метод инкапсуляции клеток позволяет обеспечить соответствие строгим критериям, которые включают в себя способность производить малые, гомогенные, монодисперсные капсулы сферической формы с высокой скоростью и воспроизводимостью, а также с узким распределением по размерам.

Использование инкапсуляции в микрофлюидике – это возможность создания простых и двойных эмульсий, пузырьков газов, получения наночастиц для флуоресцентных красителей «квантовых точек», магнитных микрочастиц.

Микрофлюидика в капле развивается по двум магистральным направлениям:

а) технология, позволяющая управлять и контролировать движение отдельных капель на подложке – цифровая микрофлюидика;

б) технология, позволяющая формировать капли в жидкой среде, осуществлять разнообразные манипуляции с ними и перемещать их по закрытым каналам в различные области микрочипа – капельная микрофлюидика.

В свою очередь, капельная микрофлюидика имеет сходство с гидродинамикой сегментированного потока. Основное отличие между данными методами заключается во взаимодействии несмешивающихся фаз со стенками канала (рисунок 1.13). Очевидное преимущество капельной микрофлюидики заключается в том, что исследуемый поток не взаимодействует со стенками канала. За счет этого предотвращается сорбция молекул и возможность перекрестного загрязнения между распределенными объемами.

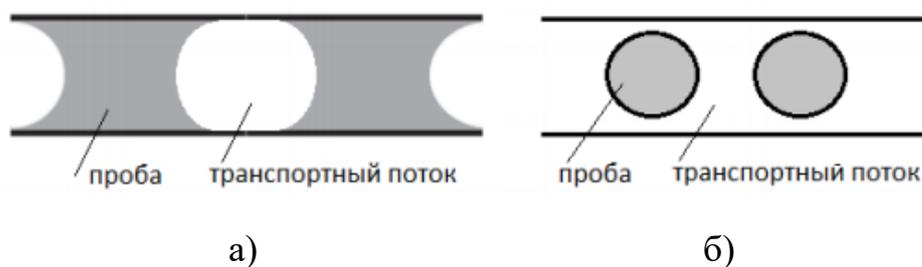


Рисунок 1.13 – Распределение несмешивающихся фаз внутри канала

(а) сегментированный поток, (б) капельная микрофлюидика

Микрофлюидные технологии имеют ряд преимуществ, к которым следует отнести:

- высокая скорость формообразования капель;
- малый расход реагентов и пробы;
- полный контроль условий формирования капель;
- возможность осуществления слияния или «дробления» капель и т.п.

В области капельной микрофлюидики проведены многочисленные исследования, свидетельствующие о возможности создания микросистем для химического и биохимического синтеза веществ, нано- и микрочастиц, а также возможно проведение исследований отдельных клеток и скрининга лекарственных веществ с помощью высокопроизводительной молекулярной диагностики методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) [59-61].

#### *Синтез фармацевтических субстанций*

Микрореакторы используют в химии для синтеза различных веществ, изучения кинетики реакции. Они могут быть классифицированы по геометрии, материалу, из которого изготавливаются, и технологии производства. Перспективной и сравнительно новой областью использования микрореакторов в фармацевтической промышленности является их применение для проведения процессов микроинкапсулирования. Развитие и применение микрореакторов связано с развитием технологии непрерывных проточных реакций. Основное отличие микрореакторов (капиллярных реакторов) от привычных объемных в ламинарности потоков жидкости и газа. Ламинарный поток определяется числом Рейнольдса. Эта величина прямо пропорциональна диаметру капилляра, скорости потока и плотности жидкости и обратно пропорциональна вязкости [62].

Микрореакторное оборудование представляет собой аппараты непрерывного действия с объемом от микролитров до миллилитров и может подразделяться по производительности от лабораторного до промышленного. Среди компаний, занимающихся производством подобных систем, можно выделить компанию Wingflow AG (Швейцария). Она производит системы как лабораторного уровня (QMix), так и промышленные установки для различных областей применения (CombiFlow) [63]. Главное отличие этой компании заключается в том, что она имеет широкую линейку оборудования с уникальными дозирующими системами, которые обеспечивают высокую точность беспульсационного дозирования при скорости потока от нескольких нанолитров до нескольких литров в минуту.

Процесс, протекающий внутри микрофлюидного оборудования, можно отслеживать с помощью блоков контроля условий: нагрев/охлаждение,

воздействие электромагнитного, микроволнового, ультразвукового или УФ-излучения и т.д. В качестве модулей контроля показателей продукта применяют установки высокоэффективной жидкостной хроматографии, спектрофотометры, микроскопы и др.

Микрореакторные системы чаще всего представлены в виде модулей, где чип, узел или их система являются центральным элементом [64, 65]. Помимо микрореакторного узла, основополагающим является использование прецизионных насосных модулей (как правило, шприцевых или поршневых, реже перистальтических). Главным условием успешного применения микрореакторного оборудования на практике является точность дозирования насосных модулей, наряду с дизайном микрочипов. Прецизионные модули системы Qmix – neMESYS (Wingflow AG) (рисунок 1.14) позволяют работать в широком диапазоне давлений (до 890 бар) и температур прокачки исходных веществ (от -20 до 250 °С). Благодаря техническим средствам и использованию программируемого перекрестного хода (cross flow) в момент переключения шприцев (поршней) обеспечивается непрерывность и беспульсационность дозирования.



Рисунок 1.14 – Микрореакторная система лабораторного уровня  
Qmix (Wingflow AG)

Базовая комплектация системы Qmix состоит из: двух реакторных модулей, укомплектованных 4-слойными микрочипами для инкапсулирования, шести насосных модулей для беспульсационного генерирования трех непрерывных потоков, встроенной цифровой камерой, модуля контроля давления и автоматизации. Дополнительно могут быть подключены реакторные модули

(термостатирующие блоки с возможностью программированного контроля температуры), блоки регулирования/контроля давления, модули отбора проб, модули автоматизации и др. Для удобства работы с системой в комплект включено программное обеспечение QmixElements. При необходимости также можно подключить аналитические модули, которые работают в режиме онлайн: компактный микроскоп или спектрофотометрический блок.

Благодаря своим неоспоримым преимуществам микрореакторные технологии вызывают активный интерес во всем мире. Данные системы, по сравнению со стандартными технологиями, обеспечивают повышенную легкость контроля за процессом, высокую производительность при миниатюрном исполнении оборудования, а также высокое качество продукта при строгом соблюдении стерильности, что особенно важно для биотехнологического и фармацевтического производства.

## **1.2 Варианты построения информационных систем для хранения и обработки данных**

Информационная система (ИС) – синхронизированная совокупность средств и методов, используемых для хранения, обработки и выдачи информации в интересах достижения поставленной цели [66].

Информационные системы классифицируются по определенным признакам [67]:

### **1. Признак структурированности задач:**

– структурированные (формализуемые) задачи. Все элементы и взаимосвязи между задачами выражаются в форме математической модели, имеющей точный алгоритм решения;

– неструктурированные (неформализуемые) задачи. Отсутствие взаимосвязи между элементами задач, невозможно создать математическое описание и разработать алгоритм;

– частично структурированные задачи. Известна часть элементов и связей между ними.

Для решения частично структурированных задач используют информационные системы, которые подразделяются на два вида [68, 69]:

- системы, которые предназначены для создания управленческих отчетов и ориентированы на поиск, обработку, фильтрацию данных, обеспечивают информационную поддержку пользователя, т.е. предоставляют доступ к информации в базе данных и ее частичную обработку;
- системы, облегчающие выработку и оценку альтернатив решения (модельные или экспертные) – предоставляют пользователю математические, статистические, финансовые и другие модели.

2. Признак организованности хранящейся информации и характер ее представления [70]:

- фактографические информационные системы. Накопление и хранение информации одного или нескольких типов структурных элементов происходит в виде множества экземпляров (информационных объектов);
- документальные информационные системы. Документ, содержащий информацию, является единичным элементом (входной документ). При создании информационной базы процесс структуризации не проводится или проводится в ограниченном виде;
- геоинформационные системы. Данные представляются в виде отдельных информационных объектов, привязанных к единой топографической электронной основе (электронной карте).

3. Признак функциональности и решаемости задач [71, 72]:

- справочные информационные системы. Информация, хранящаяся в системе, относится к определенным классам объектов (телефоны, адреса, литература и пр.);
- информационно-поисковые системы. Поиск данных в системе организуется по различным поисковым образам;
- расчетные информационные системы. Информация обрабатывается по определенным расчетным алгоритмам, например, вычисление определенных статистических характеристик;

– технологические информационные системы. Данные системы предназначены для автоматизации технологических процессов, например, автоматизированные системы управления, системы автоматизации документооборота и пр.

#### 4. Признак масштабируемости и интегрируемости компонентов:

– локальное автоматизированное рабочее место. Программно-технический комплекс, позволяющий реализовать управление функциями на отдельном рабочем месте. Информационно и функционально не связан с другими информационными системами;

– комплекс автоматизированных рабочих мест. Комплекс связан информационно и функционально и реализует в полном объеме функции управления;

– компьютерная сеть автоматизированных рабочих мест на единой базе. Используется в масштабе предприятия или группы предприятий для интеграции функций управления;

– корпоративная информационная система. Используется на крупных предприятиях и обеспечивает полнофункциональное распределенное управление.

#### 5. Признак обрабатываемости информации на различных уровнях управления предприятием [73, 74]:

– комплексы, предназначенные для учета и регулирования операций, подготовки стандартных документов (накладных, отчетов, платежных поручений и т.д.) и используемые на нижнем уровне – системы обработки данных (EDP – Electronic Data Processing);

– комплексы, ориентированные на управление, планирование, анализ и организацию работ в течение нескольких недель (месяцев), например, анализ и планирование поставок, сбыта, составление производственных программ и используемые на среднем уровне – информационные системы управления (MIS – Management Information System);

– комплексы, предназначенные для решения задач по формированию стратегических целей, задач планирования, привлечения ресурсов, источников

финансирования и используемые на верхнем уровне управления – системы поддержки принятия решений (DSS – Decision Support System).

6. Признак управляемости по уровням [75]:

– оперативный (операционный) уровень. Системы, предназначенные для выполнения стандартных процедур специалистами (обработка данных о договорах, сделках и т.д.);

– средний уровень звена. Системы, используемые специалистами, для мониторинга, контроля, администрирования, принятия решений и т.д.;

– высший уровень звена. Стратегические системы, обеспечивающие поддержку принятия решений по реализации перспективных целей развития организации и помогающие высшему звену управленцев осуществлять долгосрочное планирование.

7. Признак функциональности:

– производственные системы, предназначенные для создания и внедрения в производство научно-технических идей и направленные на выпуск продукции;

– маркетинговые системы, позволяющие проводить анализ рынка производителей и потребителей выпускаемой продукции, анализ продаж, а также позволяют организовывать рекламные кампании по продвижению продукции и обеспечивают рациональное материально-техническое снабжение;

– финансово-учетные системы, предназначенные для организации контроля и анализа финансовых ресурсов на основе бухгалтерской, статистической и оперативной информации;

– кадровые системы, предназначенные для реализации функций оперативного планирования и учета личного состава, подбора и расстановки специалистов, ведения служебной документации по различным аспектам и т.д.;

– вспомогательные системы, предназначенные для автоматизации оперативного управления инструментальным производством.

8. Признак построения (архитектура ИС):

– локальные ИС. Все компоненты (БД, СУБД, клиентские приложения) находятся на одном компьютере [76];

– распределенные ИС. Компоненты распределены по нескольким компьютерам.

Информационные системы распределенного класса разделяют:

- на файл-серверные ИС;
- клиент-серверные ИС.

### **1.2.1 Локальные информационные системы**

Информационные системы по функциональным частям могут размещаться на одном или на нескольких компьютерах. Под локальными системами подразумевается технология обработки информации в базе данных, расположенной в памяти одной вычислительной системы. Если эта вычислительная система является компонентом сети электронно-вычислительных машин (ЭВМ), то возможно организовать распределенный доступ к базе данных для пользователей различных ЭВМ данной сети. Такой способ использования баз данных часто применяют в локальных сетях персональных ЭВМ.

Благодаря использованию программных средств можно организовать функционирование локальной ИС на одном компьютере в среде некоторой операционной системы (ОС) с помощью следующих вариантов:

- полная система управления базами данных (СУБД);
- приложения с ядром СУБД;
- независимое приложение.

Первый вариант организации локальной ИС обычно применяется в случаях, когда в оперативной памяти компьютера помещается вся система управления базами данных. Пользователь взаимодействует с СУБД напрямую через графический пользовательский интерфейс или с помощью приложения.

Основное достоинство данного варианта организации ИС заключается в простоте разработки и сопровождения баз данных и приложений при наличии соответствующих развитых средств разработки. К недостаткам можно отнести затраты оперативной памяти на хранение программы СУБД.

Приложение с ядром СУБД используют для достижения следующих целей:

- уменьшения объема, занимаемого СУБД пространства жесткого диска и оперативной памяти;
- защиты приложения от модификации со стороны пользователя (ядро не содержит средств разработки приложений);
- повышения скорости работы приложения.

Примером такого подхода является использование современного инструмента разработки СУБД – Microsoft Office Access. С его помощью можно создавать удобные и интуитивно понятные структуры БД, строить таблицы, формировать запросы и отчеты по информации, содержащейся в БД.

По сравнению с использованием СУБД полной версии к достоинствам использования ядра СУБД являются: ускорение работы приложения, сокращение потребления ресурсов оперативной памяти компьютера и возможность защиты приложения от модификации. К основным недостаткам можно отнести недостаточно высокое быстродействие работы приложения.

При организации ИС по третьему способу предварительно компилируется исходная программа и преобразуется последовательность команд, исполняемых ЭВМ. В результате получается готовая к выполнению независимая программа, не требующая для своей работы полной или частичной СУБД. Важно отметить, что с точки зрения выполнения основных функций хранения и обработки данных такая программа мало отличается от приложения, работающего под управлением СУБД или ее ядра.

По сравнению с двумя предыдущими вариантами построения ИС к основным достоинствам данного варианта можно отнести: экономию внешней и оперативной памяти компьютера, ускорение работы приложения и тотальную защиту приложения от модификации. К недостаткам относят трудоемкость доработки приложений и отсутствие возможности использовать стандартные средства СУБД по обслуживанию БД.

## 1.2.2 Клиент-серверные информационные системы

Данный вид системы отличен от локальных систем тем, что для большей эффективности приложение разделено на отдельные задачи, размещаемые на различных платформах. Это означает, что данные и программа управления данными находятся на сервере, а программа представления данных располагается на компьютере пользователя (на клиенте). Обработка данных осуществляется на машине клиента или распределяется между клиентом и сервером в зависимости от приложения и используемого программного обеспечения. Соединение сервера с клиентами осуществляется по сети. Программное обеспечение на сервере принимает запросы от программного обеспечения клиента и возвращает ему обработанные результаты [77-80].

### *Архитектура клиент-сервер*

Клиент-серверные системы построены так, что управление данными осуществляется на узле сервера, а другим узлам предоставляется доступ к данным, расположенным на машине клиента [81]. Процессы, осуществляемые между клиентом и сервером, представляют собой транзакционный синхронный обмен, в котором активность исходит от клиента, а сервер реагирует на эту активность [82-84]. Взаимодействие между одновременно выполняемыми программными процессами построены таким образом, что клиентские процессы посылают запросы серверному процессу, а сервер, в свою очередь, отправляет обратно результаты обработанных запросов. На рисунке 1.15 проиллюстрирована общая архитектура клиент-сервер.

Клиентская часть представляет собой удобный графический интерфейс пользователя, который расположен на персональном компьютере или на рабочей станции. В архитектуре клиент-серверной информационной системы наиболее распространенным типом сервера является сервер баз данных, как правило, управляющий реляционной базой данных.

Высокопроизводительный сервер предоставляет коллективный доступ нескольким клиентам к одной и той же базе данных. Помимо клиентов и серверов, важным элементом организации взаимодействия является сеть. Пользователи,

приложения и ресурсы располагаются на разных компьютерах, поэтому для соединения используют общую локальную, глобальную или составную сеть [85].

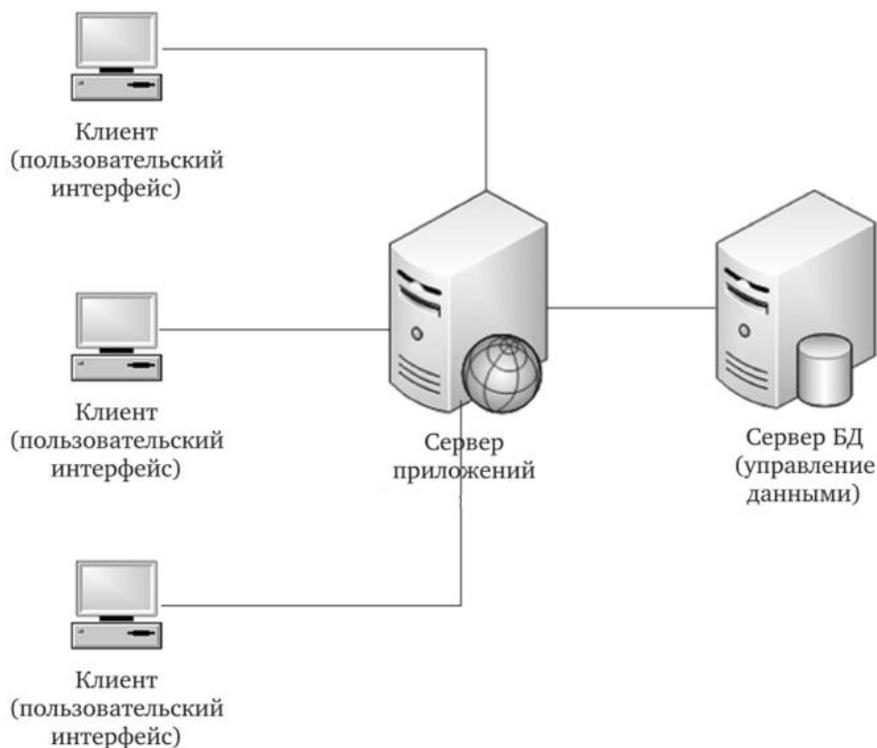


Рисунок 1.15 – Общая архитектура клиент-сервер

Ключевым звеном данной архитектуры является компьютерная сеть, поэтому при работе с информационными системами данного типа основной приоритет имеют вопросы сетевого администрирования и сетевой безопасности. Платформы, как и операционные системы клиентов и серверов, в едином окружении могут отличаться, однако эти различия не имеют значения, если сервер и клиент используют одни и те же коммуникационные протоколы и поддерживают одинаковые приложения. Взаимодействие клиента и сервера обеспечивается коммуникационными программными продуктами, представленными в виде набора протоколов (TCP/IP-протоколы OSI), а также различными фирменными архитектурами, вроде клиент-сервер SNA [85]. Существенным фактором успешного взаимодействия пользователя с системой является пользовательский интерфейс, реализующий клиентскую часть. Серьезное внимание в большинстве клиент-серверных систем уделяется графическому интерфейсу пользователя (GUI – Graphical User Interface), поскольку он должен быть простым, удобным, но

одновременно мощным и гибким.

Наиболее привлекательной тенденцией для применения клиент-серверных систем является то, что снижаются трудовые затраты, так как компания избавляется от лишних рабочих мест, что позволяет увеличивать производительность без увеличения числа сотрудников. Использование информационных систем с клиент-серверной архитектурой позволяет автоматизировать решение задач и устраняет барьеры информационных потоков, что положительно сказывается на производительности компаний.

### **1.3 Математическое моделирование кинетики роста культуры клеток млекопитающих на микроносителе с использованием клеточно-автоматного подхода**

Клеточный автомат (КА) – дискретная модель, которая представляет исследуемую систему в виде решетки произвольной размерности. Каждая клетка этой решетки в каждый момент времени находится в одном из заранее заданных возможных состояний. На каждом шаге по времени клетка меняет свое состояние в соответствии с определенными для КА правилами перехода. Особенностью правил перехода клеточных автоматов является то, что они носят локальный характер, то есть клетка меняет свое состояние в зависимости от состояний соседних клеток, которые входят в ее окрестность.

Таким образом, клеточные автоматы разбивают исследуемую систему на дискретные участки (клетки), взаимодействующие друг с другом [86]. Это открывает широкие возможности для моделирования сложных динамических систем при сохранении относительной простоты вычислений [87, 88]. Благодаря этим преимуществам клеточные автоматы получили широкое распространение во многих областях науки, в том числе в биотехнологии. Изучение роста клеточных линий с помощью клеточно-автоматного подхода позволяет предсказывать динамическую реакцию клеток на внешние раздражители и быстро оценивать влияние различных системных параметров на общие темпы роста клеток.

На сегодняшний день клеточные автоматы получили широкое распространение при моделировании процесса роста клеток [89]. Одной из первых клеточно-автоматной моделью, описывающей рост клеток, является модель агрегации, предложенная Эденом в 1958 году [90-92]. Модель, используя простые правила, описывает рост клеточной линии и позволяет, варьируя параметры модели, менять форму поверхности растущего кластера. В работе [93] КА-подход был использован для моделирования роста костной ткани. Клеточно-автоматная модель позволила описать поведение клеток костной ткани, включая их созревание и гибель. Предложенная модель показала хорошую сходимость с экспериментальными данными и является первой моделью, которая позволяет исследовать и прогнозировать количественное распределение клеток костной ткани на углеродном микроносителе.

В работе [94] авторы предложили клеточно-автоматную модель роста клеток, описав механизмы их возникновения, формирования и дальнейшего деления. В работе [95] был разработан нейронный клеточный автомат, который описывает динамические процессы, происходящие в белке и влияющие на его конечную форму. В работе [96] авторы с использованием клеточно-автоматного подхода разработали модель биоконверсии одноклеточных организмов (*Euglena gracilis* – пресноводная одноклеточная водоросль). В работе [97] клеточно-автоматный подход был использован для моделирования роста биомассы и толщины биопленки. Используемый КА позволял описывать перемещение избыточного количества биомассы к поверхности биопленки.

В работе [98] была исследована возможность применения КА-подхода для моделирования структур биопленок, а также были обозначены преимущества клеточно-автоматного подхода при моделировании структур данного типа. В работе [99] была предложена клеточно-автоматная модель массопереноса и микробной активности в стратифицированных биопленках. Модель рассчитывает микробную активность в гетерогенных биопленках, а также позволяет прогнозировать диффузию питательного вещества в многослойные биопленки. В работе [100] КА-модель была использована для моделирования липидной

мембраны. С помощью модели были спрогнозированы структурные изменения мембраны, а именно процесс порообразования в присутствии или отсутствии молекул, модифицирующих липидную мембрану. В работе [101] КА-подход был использован для моделирования биохимических реакций, участвующих в передаче клеточного сигнала. В работе [102] с помощью клеточного автомата было проведено моделирование роста клеточной линии в трехмерном пространстве. Модель позволяет учитывать многие факторы, влияющие на поведение и рост клеток. В работе [103] клеточно-автоматный подход позволил осуществить моделирование роста опухолевых нейрональных стволовых клеток. Был использован стохастический клеточный автомат, который описал развитие опухолевых нейросфер в результате трансформации случайно выбранной клетки-предшественника в стволовую клетку опухоли головного мозга. Модель позволила учесть влияние зрелости и гибели клеток на развитие опухоли.

В настоящее время клеточно-автоматный подход широко используется в области биотехнологии при моделировании динамических систем, в частности, процессов роста клеток. Такие модели позволяют частично заменить натурные эксперименты вычислительными, что значительно сокращает затраты и время на проведение исследований. Кроме того, существенным преимуществом клеточных автоматов является возможность их реализации с использованием современных средств компьютерного моделирования. Клеточные автоматы обладают относительно низкими требованиями к вычислительным ресурсам, что позволяет моделировать крупные системы, состоящие из большого количества элементов. Локальность правил перехода делает возможным применение высокопроизводительных параллельных вычислений при разработке КА-модели, что существенно повышает скорость расчетов.

#### **1.4 Моделирование гидродинамики в биореакторе для культивирования клеток млекопитающих**

При разработке математической модели биореактора важно понимать характер потоков сред внутри аппарата. Как правило, среды, исследуемые в

биотехнологических процессах, не являются однородными. Они представляют собой суспензию клеток и питательной среды, т.е. являются многофазными (гетерогенными) средами. В гетерогенных средах на границах раздела фаз возможны фазовые переходы и различные реакции (химические, биологические, физические). В динамике таких сред важную роль играет различие свойств отдельных фаз. Советский ученый Х. А. Рахматулин для описания течений в гетерогенных средах предложил гипотезу взаимопроникающих континуумов, [104]: многокомпонентная гетерогенная среда представляется совокупностью  $N$  сплошных сред, каждая из которых описывается своей скоростью, плотностью, удельной внутренней энергией, давлением, температурой и т. д. Данная гипотеза была взята за основу при изучении методов механики сплошных сред, поскольку идеи взаимопроникающего движения составляющих смеси и механики взаимопроникающих (многоскоростных) континуумов хорошо подходят для описания различных смесей.

Изучить динамику сред при данном подходе можно с помощью систем уравнений сохранения массы, импульса и энергии для компонент смеси. Результаты изучения движения дисперсных сред приведены в работах Р. И. Нигматулина [105-107].

С определением взаимопроникающего движения составляющих смеси и введением понятия многоскоростного континуума стало возможным проводить описание гомогенных и гетерогенных смесей методами механики сплошной среды, в том числе и описание гидродинамических потоков внутри суспензионного биореактора. Согласно работе [105], многоскоростной континуум представляет собой  $m$  континуумов, каждый из которых относится к своей составляющей (фазе или компоненте) смеси и заполняет один и тот же объем, занятый смесью. Для каждого из этих составляющих континуумов в каждой точке определяется плотность (приведенная)  $\rho_i$  (масса  $i$  составляющей в единице объема среды), скорость  $v_i$  ( $i = 1, \dots, m$ ), а затем и другие параметры, относящиеся к своему континууму и своей составляющей смеси. Таким образом, в каждой точке объема, занятого смесью, будет определено  $m$  плотностей  $\rho_i$ ,  $m$  скоростей  $v_i$  и т. д.

Основой для описания механики смесей являются физические законы сохранения массы, импульса и энергии, однако решение задачи определения взаимопроникающего движения составляющих смеси методами механики сплошной среды с введением понятия многоскоростного континуума представляет собой трудоемкую задачу решения системы связанных (в том числе нелинейных) уравнений в частных производных. Для упрощения решения подобных задач используют уравнение неразрывности (1.1), уравнение сохранения импульса (1.2) и уравнение сохранения энергии (1.3) [108].

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \rho \vec{v} = 0 \quad (1.1)$$

$$\frac{\partial(\rho \vec{v})}{\partial t} + \nabla(\rho \vec{v} \vec{v}) = -\nabla p + \nabla(\bar{\tau}) + \rho \vec{g} \quad (1.2)$$

$$\frac{\partial(\rho E)}{\partial t} + \nabla(\vec{v}(\rho E + p)) = \nabla(\lambda \nabla T) \quad (1.3)$$

Существуют различные методы для решения подобных систем уравнений. Одним из часто применяемых методов вычисления характеристик потоковых процессов является вычислительная гидродинамика (CFD – computational fluid dynamics). Данный подраздел механики сплошных сред включает такие методы вычислений, как: метод конечных разностей, метод конечных элементов, метод конечных объемов, метод решеточных уравнений Больцмана, метод подвижных клеточных автоматов, метод дискретного элемента и т.д.

Данные методы заложены в различные программные пакеты вычислительной гидродинамики, такие как: OpenFOAM, Star-CD, ADINA, Ansys CFX, XFlow, Autodesk Simulation CFD, Ansys Fluent.

Для исследования гидродинамических потоков внутри суспензионного биореактора чаще всего применяют программный пакет Ansys Fluent [109-112]. Данный программный пакет имеет широкий спектр возможностей моделирования течений жидкостей и газов с учетом турбулентности, теплообмена и химических реакций. Турбулентность можно считать самой распространенной формой движения сплошной среды, так как даже самые малые пространственные

масштабы турбулентных флуктуаций намного превосходят длины свободного пробега молекул.

### *Модели турбулентности*

Рассмотрим 4 основные категории моделей турбулентности [110, 111]:

1. Алгебраические модели:
  - модель Себеси-Смита;
  - модель Болдуина-Ломакса;
  - модель с половинным уравнением Джонсона-Кинга.
2. Модели турбулентности с одним уравнением:
  - модель Спаларта-Аллмареса.
3. Модели турбулентности с двумя уравнениями:
  - стандартная  $k-\varepsilon$  модель «*Standard k- $\varepsilon$* »;
  - ренормализационная  $k-\varepsilon$  модель «*RNG (renormalization group) k- $\varepsilon$* »;
  - реализованная  $k-\varepsilon$  модель «*Realizable k- $\varepsilon$* »;
  - стандартная  $k-w$  модель «*Standard k-w*»;
  - модель сдвиговых напряжений  $k-w$  «*SST (shear stress transport) k-w*».
4. Модели второго порядка:
  - модель рейнольдсовых напряжений «*RSM (reynolds stress model)*»;
  - модель крупных вихрей «*LES (large eddy simulation)*».

Преимущество алгебраических моделей – высокая скорость вычислений, поскольку для расчета турбулентной вязкости не прибегают к решению дифференциальных уравнений переноса. Данные модели опираются на эмпирическую информацию о структуре исследуемых жидкостей и предполагают локальное равновесие моделируемой турбулентности. Алгебраическими моделями являются: модели Болдуина-Ломакса, Себеси-Смита, модель с половинным уравнением Джонсон-Кинга. В настоящее время данные модели редко используются.

Наиболее широко используемая модель с одним уравнением является модель Спаларта-Аллмараса, она содержит одно уравнение переноса для получения турбулентной вязкости. Модель Спаларта-Аллмараса была создана для решения

задач аэродинамики, но оказалось, что область ее применимости гораздо шире. Эта модель описывает всю область жидкости и характеризуется устойчивостью, хорошей сходимостью и невысокими требованиями к плотности расчетной сетки. Несмотря на эти преимущества, модель Спаларта-Аллараса не достаточно хорошо описывает сдвиговые течения и затухание турбулентности.

К категории моделей турбулентности с двумя уравнениями относят  $k$ - $\varepsilon$  модели (например, модели «Standard  $k$ - $\varepsilon$ », «RNG  $k$ - $\varepsilon$ », «Realizable  $k$ - $\varepsilon$ ») и модели  $k$ - $\omega$  (например, «Standard  $k$ - $\omega$ », «SST  $k$ - $\omega$ ») [110].

Одновременное использование двух уравнений переноса для турбулентных характеристик порождает целый класс моделей. Это связано с тем, что возможны разные комбинации указанных характеристик: кинетическая энергия турбулентности  $k$  и скорость ее диссипации  $\varepsilon$  ( $k$ - $\varepsilon$  модель), обратное время распада вихрей  $\omega$  ( $k$ - $\omega$  модель), интегральный масштаб или турбулентная (вихревая) вязкость. Использование двух независимых переменных решает проблему расчета турбулентной вязкости.

Наиболее распространенной моделью данного класса является  $k$ - $\varepsilon$  модель. Данная модель состоит из двух уравнений переноса: турбулентной кинетической энергии ( $k$ ) и скорости диссипации энергии ( $\varepsilon$ ). Модель  $k$ - $\varepsilon$  хорошо отображает потоки, скорость которых на порядок ниже скорости звука, сразу же вычисляет скорость диссипации энергии и показывает уровень механического стресса в аппарате. Для расчета турбулентной вязкости используется формула Колмогорова-Прандтля (1.4), а для  $k$  и  $\varepsilon$  решают уравнения переноса. Кинетическая энергия  $k$  рассчитывается с помощью уравнения 1.5, которое получено из уравнений Навье-Стокса и Рейнольдса с небольшим числом допущений (гипотеза турбулентной вязкости и моделирование слагаемого, описывающего турбулентную диффузию). Уравнение переноса (1.6) для  $\varepsilon$  также было получено теоретически, но для его замыкания требуется гораздо больше упрощающих допущений и гипотез.

$$\mu_t = \rho C_\mu \frac{k^2}{\varepsilon} \quad (1.4)$$

$$\frac{d\rho k}{dt} + \frac{d}{dx_i}(\rho v_i k) = \frac{d}{dx_j} \left[ \left( \mu_L + \frac{\mu_t}{\sigma_k} \right) \frac{dk}{dx_j} \right] + \tau_{ij}^F S_{ij} - \rho \varepsilon \quad (1.5)$$

$$\begin{aligned} \frac{d\rho \varepsilon^*}{dt} + \frac{d}{dx_i}(\rho v_i \varepsilon^*) \\ = \frac{d}{dx_j} \left[ \left( \mu_L + \frac{\mu_t}{\sigma_\varepsilon} \right) \frac{d\varepsilon^*}{dx_j} \right] + C_{\varepsilon_1} f_{\varepsilon_1} \frac{\varepsilon^*}{k} \tau_{ij}^F S_{ij} \\ - C_{\varepsilon_2} f_{\varepsilon_2} \rho \frac{(\varepsilon^*)^2}{k} + \phi_\varepsilon \end{aligned} \quad (1.6)$$

где  $\rho$  – плотность рабочей среды,  $k$  – кинетическая энергия турбулентности,  $v_j$  – кинематический коэффициент вязкости,  $\mu_L$  – динамический коэффициент ламинарной вязкости,  $\mu_t$  – динамический коэффициент турбулентной вязкости,  $\tau_{ij}^F$  – тензор вязких напряжений,  $S_{ij}$  – тензор скоростей деформации,  $\varepsilon$  – скорость диссипации энергии,  $\sigma_\varepsilon$ ,  $\sigma_k$ ,  $C_{\varepsilon_1}$ ,  $C_{\varepsilon_2}$  – параметры модели,  $f_{\varepsilon_1}$ ,  $f_{\varepsilon_2}$  – затухающие функции,  $\phi_\varepsilon$  – заданный терм.

Для  $k$ - $\varepsilon$  модели сформировался стандартный рекомендуемый набор эмпирических констант, который обычно принимается по умолчанию в коммерческих вычислительных пакетах [112]:  $C_\mu = 0,09$ ;  $C_{\varepsilon_1} = 1,44$ ;  $C_{\varepsilon_2} = 1,92$ ;  $\sigma_k = 1,0$ ;  $\sigma_\varepsilon = 1,3$ .

Некоторые турбулентные течения с точностью достаточной для многих инженерных расчетов, в том числе и для расчета гидродинамических потоков внутри суспензионного биореактора, позволяет рассчитать стандартная версия  $k$ - $\varepsilon$  модели. Альтернативная модель  $k$ - $\omega$  с большей точностью описывает пристеночные эффекты, но сходимость, по сравнению с выбранной моделью  $k$ - $\varepsilon$ , хуже.

Из-за повышенной сложности категории моделей турбулентности второго порядка используются реже, чем, например, модели с одним или двумя уравнениями. К категории моделей второго порядка относят, например, модель рейнольдсовых напряжений (RSM – Reynolds Stress Model), модель крупных вихрей (LES – Large Eddy Simulation) [113, 114].

### *Многофазные потоки и массообмен*

Описание сплошной среды подразумевает под собой задание числовых характеристик. Это можно сделать двумя способами: привязывать характеристику к частице в данный момент времени и привязывать характеристику к точке пространства, в которой в данный момент находится частица. В зависимости от подхода к моделированию многофазных течений применяют два способа, которые называются, соответственно, Лагранжевым и Эйлеравым описаниями сплошной среды.

В основе Лагранжева подхода лежит рассмотрение движения отдельных частиц (или групп частиц) вторичной дисперсной фазы. В основе Эйлера подхода лежит рассмотрение изменений параметров течения (скорости, давления, температуры) в точках пространства.

В рамках Эйлера подхода все фазы рассматриваются как сплошные, независимо от их реальной морфологии. Существуют также гибридные модели, в которых чередуются Лагранжев и Эйлеров (усреднение по пространству и переход от реального распределения частиц к объемной доле) шаги. В подходе Эйлера-Лагранжа происходит учет газовой фазы в координатах Лагранжа, т.е. вводится допущение, что пузырьки газа не изменяют параметров течения потока в силу их малой концентрации. Таким образом, параметры потока задаются в каждой точке пространства. При применении подхода Эйлера-Лагранжа уравнение движения решается отдельно для дисперсной и сплошной фаз, а взаимодействие фаз учитывается через источники массы, импульса и энергии. Данный подход обладает быстрой сходимостью и обеспечивает качественное представление о распределении газа внутри емкости.

В работе [115] был использован метод Эйлера-Лагранжа. Он продемонстрировал свою способность характеризовать механические напряжения при культивировании адгезивных клеточных линий не только с точки зрения пространственного распределения, но и с точки зрения частоты и продолжительности воздействия этих напряжений.

В методе Эйлера-Эйлера обеспечивается наиболее точный подход к моделированию барботируемого газа в суспензии. Вся система рассматривается в координатах Эйлера и межфазовые взаимодействия учитываются с помощью сил сопротивления. При использовании подхода Эйлера-Эйлера явления турбулентности могут быть учтены путем ввода в уравнение сохранения импульса дополнительных сил, действующих на систему. Необходимо отметить, что описать систему, в которой присутствуют два потока твердых частиц, движущихся в одном объеме с разными скоростями, с помощью подхода Эйлера-Эйлера не получится. В таких случаях используют метод конечных элементов (DEM – discrete element method).

В работе [116] использовался подход Эйлера-Эйлера, который позволил изучить не только пузырьковое течение процесса, но и оценить влияние на другие аспекты пузырьковых течений, такие как: коалесценция и распад пузырьков или тепломассообмен между пузырьками и жидкостью.

В программном пакете Ansys Fluent Лагранжев подход представлен: моделью дискретной фазы (DPM – discrete phase model) [117] и методом конечных элементов. Эйлеров подход представлен следующими моделями и методами: метод конечных объемов (VOF – volume of fluid), модель многофазной смеси (Mixture), полная Эйлеровая модель (Eulerian), модель взаимопроникающих сред и т.д.

В настоящее время метод конечных объемов является основным подходом к построению консервативных разностных схем на неравномерных, в том числе неструктурированных сетках. Метод конечных объемов предназначен для описания двух несмешивающихся жидкостей или фаз (например, газ-жидкость) [118-120]. Суть метода состоит в том, что в каждой ячейке сетки по всей области принято использовать только одно значение для каждой зависимой переменной, определяющей состояние жидкости. В каждой ячейке определяется значение функции  $F$  [121-123]. В точке, занятой жидкостью, значение функции равно единице, а нулевое значение будет означать, что ячейка не содержит жидкости. Ячейки со значениями  $F$  от нуля до единицы должны содержать свободную поверхность. Таким образом, метод конечных объемов обеспечивает простой и

экономичный способ отслеживания свободных границ в двух- или трехмерных сетках, он особенно полезен, поскольку использует минимум информации и автоматически обрабатывает пересекающиеся свободные границы. Метод конечных объемов применим для описания различных случаев гидродинамической обстановки, например, для течения жидкости в открытых емкостях [124-132].

В работе [133] было проведено комплексное многофазное моделирование, основанное на моделях Эйлера-Эйлера и Эйлера-Лагранжа. Данные подходы были использованы для прогнозирования механического стресса в различных зонах исследуемого биореактора. Для создания неструктурированной, сегрегированной, упрощенной модели параметры гидродинамического напряжения были связаны с параметрами роста клеточных культур. В данной работе приводится сравнение исследований однофазных и многофазных потоков. Авторами отмечено, что методы вычислительной гидродинамики являются одним из наиболее эффективных методов характеристики полей потоков. Для проверки влияния различных уровней гидродинамических напряжений на рост и качество клеток было проведено моделирование в программном пакете Ansys Fluent при различных скоростях вращения мешалки и с различными значениями критериев суспензии ( $N_{slu}$ ,  $N_{sl}$ ), которые были определены экспериментально. Данные, полученные с помощью программного пакета Ansys Fluent, позволяют определить оптимальные параметры проведения процесса культивирования клеток.

В моделировании сложных процессов современные тенденции направлены на комбинирование различных методов и подходов для получения наиболее полной картины протекания процессов культивирования в суспензионных биореакторах.

Таким образом, исходя из проведенного анализа научно-технической литературы, была выбрана дальнейшая стратегия разработки аналитической части информационно-аналитического комплекса, который содержит два блока:

– блок по исследованию процесса культивирования клеток млекопитающих на микроуровне, а именно моделирование роста клеток млекопитающих на поверхности микроносителя с использованием клеточно-автоматного подхода;

– блок, посвященный исследованию процесса культивирования клеток млекопитающих на макроуровне, а именно моделированию гидродинамических потоков питательной среды в биореакторе. Для описания режима движения внутренних потоков среды при культивировании клеток млекопитающих выбрана многофазная модель Эйлера, встроенная в программный пакет Ansys Fluent.

## **1.5 Постановка задачи исследования**

Целью диссертационной работы является разработка информационно-аналитического комплекса, позволяющего систематизировать данные в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих, хранить, обрабатывать и анализировать их.

Для достижения заданной цели поставлены следующие научно-технические задачи:

1. Проведение системного анализа области исследований пребиотической активности и процессов культивирования клеток млекопитающих на лабораторном и промышленном уровнях.

2. Разработка архитектуры и программная реализация базы данных для хранения экспериментальных данных об исследованиях пребиотической активности и процессах культивирования клеток млекопитающих. Создание информационных систем в соответствующих областях.

3. Разработка и программная реализация алгоритма, позволяющего принимать решение по подбору системы культивирования клеток млекопитающих.

4. Создание компьютерной модели (цифрового двойника) кинетики роста клеток млекопитающих на микроносителе с использованием клеточно-автоматного подхода.

5. Разработка математической модели гидродинамических потоков питательной среды внутри суспензионного биореактора, решение уравнений с помощью программного пакета Ansys Fluent, подбор режима работы биореактора.

## **Глава 2. Системный анализ области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих**

По целям, спектру решаемых задач, применяемому оборудованию и масштабу производства биотехнологическую область разделяют на девять отраслей:

1. *Биофармацевтика*. Отрасль, отвечающая за разработку и производство жизненно важных лекарственных препаратов, вакцин нового поколения, антибиотиков и т.д.

2. *Биомедицина*. Отрасль, отвечающая за развитие таких направлений, как: персонализированная медицина, диагностика invitro, биомедицинские клеточные технологии, биосовместимые материалы, биоинформатика и т.д.

3. *Промышленная биотехнология*. Отрасль, отвечающая за развитие таких направлений, как: производство ферментов, биологически-активных веществ и добавок, производство субстанций антибиотиков, биodeградируемых полимеров, создание биологических комплексов по глубокой переработке древесной биомассы, зерновых и других сельскохозяйственных культур.

4. *Биоэнергетика*. Отрасль, отвечающая за производство электрической энергии и тепла из биомассы, утилизацию эмиссии парниковых газов и предотвращение последствий вредного антропогенного воздействия на окружающую среду.

5. *Сельскохозяйственная биотехнология*. Отрасль, отвечающая за развитие таких направлений, как: биотехнология растениеводства (биологическая защита растений, создание новых гибридов и сортов растений биотехнологическими методами, биотехнология почв и биоудобрения), биотехнология животноводства (технологии молекулярной селекции животных и птиц, трансгенные и клонированные животные, биопрепараты для животноводства, кормовой белок, биологические компоненты кормов и премиксов), а также отрасль биотехнологии, отвечающая за переработку сельскохозяйственных отходов.

6. *Пищевая биотехнология*. Отрасль, отвечающая за производство пищевого белка, ферментных препаратов, пребиотиков, пробиотиков,

синбиотиков, функциональных пищевых продуктов (лечебных, профилактических и детских), производство пищевых добавок и ингредиентов, а также включающая глубокую переработку пищевого сырья.

7. *Лесная биотехнология.* Отрасль, отвечающая за сохранение и воспроизводство лесных ресурсов, занимается управлением лесонасаждениями, созданием биотехнологических форм деревьев с заданными признаками, а также разрабатывает биологические средства защиты леса.

8. *Природоохранная (экологическая) биотехнология.* Отрасль, отвечающая за создание биологических коллекций и биоресурсных центров, а также занимается очисткой сточных вод, грунтов и атмосферы.

9. *Морская биотехнология.* Отрасль, фокусирующаяся на создании сети аквабиоцентров, глубокой переработке гидробионтов и продукции аквакультур, производстве специализированного корма для аквакультур.

Данная классификация включает в себя наиболее подробный перечень отраслей, но упомянуты лишь стратегически важные подотрасли.

В данной работе будут рассмотрены две подотрасли: культивирование клеток млекопитающих (биомедицина) и исследования пребиотической активности (пищевая биотехнология).

## **2.1 Системный анализ области культивирования клеток млекопитающих**

Промышленное производство – многокомпонентная структура, состоящая из большого количества взаимосвязанных элементов, для управления которыми необходима интегрированная информационная система, которая обеспечит сбор, хранение и обмен технологическими данными, облегчит процессы управления и принятия решений.

Для решения подобного рода задач при совершенствовании существующих технологических линий, организации новых биотехнологических производств и разработке автоматизированных систем управления и контроля производством, успешно применяют системный анализ [134, 135]. Применение средств и методов системного анализа при организации и/или принятии управленческих решений в

биотехнологическом производстве подразумевает создание общей модели или набора моделей. Для достижения необходимого результата с заданными критериями эффективности проводят сопоставление множеств способов решения, в том числе и альтернативные способы решения подобных задач.

Биотехнологическое производство, представленное в качестве объекта системного анализа, имеет характеристику производства со сложным уровнем организации из-за широкого спектра факторов, оказывающих влияние на выбор способа организации технологической операции или технологической цепочки [136-138]. Разнообразие технологического оборудования и наличие нерегулируемых показателей также не позволяет анализировать исследуемую систему путем стандартного перебора возможных множеств решений. Следовательно, основное внимание должно быть уделено грамотному разбиению сложной системы на основные потоки информации, что позволит сформировать единую концепцию структуры информационной среды биотехнологического производства.

Научно-технический анализ опыта, накопленного производителями, в организации технологических процессов и в выборе наиболее подходящего оборудования для обеспечения эффективного производственного процесса может быть представлен в виде ряда продукционных правил. Данные правила позволяют охарактеризовать свойства информационного объекта моделируемой биотехнологической системы [139]. Объектно-реляционная структура представляет собой базу данных или хранилище информационных объектов [140-142]. Переход от стандартного представления знаний к объектно-реляционной структуре осуществляется за счет использования продукционных правил в качестве основных характеристик моделируемой сложной системы.

В данной работе был выбран системный подход, который является универсальным инструментом для моделирования различных сложных систем за счет того, что он предполагает вычленение основных объектов из исследуемого процесса, определяет основные цели и задачи, достигаемые путем модификации системы. В этом и заключается главное отличие от классического индуктивного

подхода, при котором компоненты системы разрабатываются независимо друг от друга.

При решении задач оптимизации любых сложных систем методология системного подхода основывается на следующих основных принципах [68, 143, 144]:

- формулирование четкой цели исследования, постановка задач, решение которых позволит достичь нужного результата, а также задание критерия или ряда критериев, позволяющих произвести оценку эффективности и оптимальности найденных решений;
- разработка и построение плана исследований в рамках поставленных задач с указанием основных этапов их реализации;
- согласованное и последовательное проведение комплекса работ в рамках определенного этапа с проработкой всех перспективных направлений;
- оценивание результатов, полученных на основании детального решения задач, и организация повторных комплексных исследований в случае недостижения заданных критериев эффективности;
- применение стратегии: анализ комплекса работ проводится сверху-вниз по иерархии системы, а синтез рассматриваемой сложной системы проводится снизу-вверх по иерархии.

Использование методологии системного анализа в области биотехнологического производства с целью разработки новых технологических линий или предприятий, а также модернизации существующих, требует организации информационно-программной среды, которая будет включать в себя базы данных, позволяющие накапливать, хранить и анализировать разнородную информацию от: промышленных предприятий, специализирующихся на выпуске как типовых, так и инновационных биомедицинских продуктов; научных лабораторий и научно-исследовательских центров, занимающихся разработками новых препаратов; информацию от производителей биотехнологического и вспомогательного оборудования, контрольно-измерительных приборов; специалистов по организации требуемых условий на производстве (температура,

давление, чистота, влажность и др.) и разработчиков соответствующего оборудования; информацию о вспомогательных веществах и ингредиентах; результатах аналитических лабораторий; данные об испытаниях от независимых лабораторий; справочные материалы и др.

Считается, что вся собранная информация должна быть доступна с помощью программных инструментов среды, позволяющих пользователю извлекать требуемые данные. Пользователь системы может применять информацию, содержащуюся в системе, для разработки новых технологий и модификации имеющихся технологических производственных решений с помощью инструментов, включенных в информационно-программную среду и позволяющих проводить анализ.

Разнородность данных требует применения современных средств и подходов к организации подобных баз данных. Для структурирования информации применяют высокоскоростные алгоритмы интерактивного взаимодействия с пользователем, используют облачные технологии для хранения данных, применяют экспертные и другие методы анализа. Если провести декомпозицию любого биотехнологического процесса, то он будет характеризоваться высоким уровнем сложности. Сложность систем зависит от большого количества химических, физических и энергетических эффектов, возникающих в определенном исследуемом пространстве, их комплексного влияния друг на друга, также зависит от уровня протекания процесса (микро- и макроуровень), что оказывает влияние на итоговое качество производимого продукта. Подобная насыщенность взаимосвязанных явлений, наличие обратных связей в системах регулирования в совокупности с жесткими требованиями к показателям качества и чистоты конечного продукта, характерным для биотехнологического производства, позволяет классифицировать его как систему с высоким уровнем сложности [145]. Наличие большого количества пересекающихся и влияющих друг на друга информационных потоков значительно усложняет задачи и алгоритмы формализации объектов биотехнологического производства, выделенных на различных иерархических уровнях системы.

Использование блочного подхода к построению формализованных моделей систем подразумевает выделение из системы отдельных технологических единиц, в качестве которых могут выступать как отдельные микропроцессы, протекающие на уровне локального объема аппарата, так и отдельный аппарат, который в свою очередь может быть представлен в виде системы с соответствующим формализованным описанием. Выделенные технологические единицы будут выступать в качестве объектов-блоков, совокупность которых позволяет отразить полный технологический процесс в формализованном виде – получить модельное описание процесса. Применение данного подхода позволяет отсеять второстепенную информацию о процессе и значительно упростить его описание, а также автоматизировать построение модели анализируемой биотехнологической системы.

Анализ технических документаций производителей биотехнологического оборудования, информации о технологиях, широко применяемых в биотехнологической отрасли [3, 25, 135, 139, 145], позволил выявить следующие важные тенденции:

- Стремление различных производителей к унификации типового оборудования вследствие роста требований потребителей оборудования к взаимозаменяемости, возможности встраивания оборудования в имеющуюся технологическую линию, что позволяет потребителю найти аппараты с требуемым соотношением цена/качество и высоким уровнем сервисного обслуживания;

- Рост выпуска оборудования, позволяющего осуществлять проведение ряда смежных технологических стадий в одном аппарате, обеспечивающего возможность максимальной очистки оборудования на месте при помощи встроенных систем, а также минимизирующего риск перекрестной контаминации;

- Создание для типовых биотехнологических производств, строительство которых ведется с нуля, решений «под ключ», обеспечивающих быструю реализацию проекта, его верификацию, запуск и безопасное функционирование.

Для встраивания связей между определенной клеточной линией и используемым для ее производства технологическим оборудованием необходимо

выделить ключевые информационные объекты. Такие информационные объекты, как «Оборудование», «Клеточная линия», «Подложка» могут быть отнесены к базовым классам, которые с одной стороны являются самостоятельными объектами, а с другой стороны выполняют роль связующих звеньев между другими классами предметной области. Следовательно, такие базовые классы могут рассматриваться как информационные объекты, реализующие отношения и взаимодействия в информационной среде.

В рамках данной работы была решена задача классификации и структурирования информации, собранной в изучаемой предметной области, на основании различных информационных источников, и в том числе задача выделения базовых информационных объектов биотехнологической отрасли, а именно: «Оборудование», «Клеточная линия», «Подложка». Взаимосвязь базовых информационных объектов (базовых сущностей), выделенных при анализе предметной области, отражена на рисунке 2.1.

### СИСТЕМА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

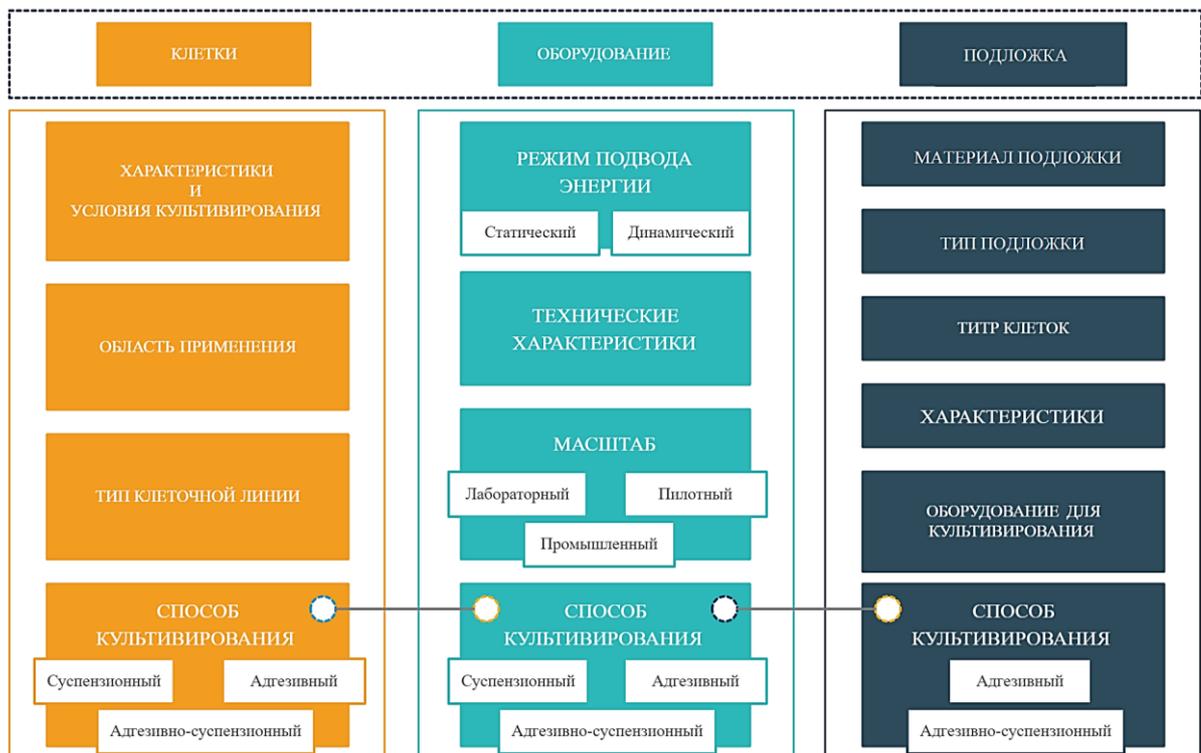


Рисунок 2.1 – Взаимосвязь базовых информационных объектов (базовых сущностей), выделенных при анализе области культивирования клеток млекопитающих

Рассмотрим подробно выделенные базовые информационные объекты и приведем существующие для них классификации.

*Информационные объекты: «Оборудование»-«Клеточные линии»-«Подложка»*

Для выявления связей между базовыми сущностями необходимо подробно описать процесс культивирования клеток.

Культивирование клеток млекопитающих начинается с подготовки ткани млекопитающего к культивации. Изначально ткань измельчают и получают смесь из отдельных клеток и их агрегатов. Затем, эту смесь переносят в соответствующую питательную среду, в состав которой обычно входят соли, углеводный субстрат, некоторые аминокислоты и сыворотка крови (на долю сыворотки обычно приходится от 5 до 20% объема всей жидкости). Сыворотка в такой искусственной среде служит источником веществ, которые необходимы для жизнедеятельности клеток и их роста в культуре. Сыворотка – дорогой препарат, и именно это обстоятельство, как правило, определяет экономическую целесообразность культивирования клеток. Так как в культуре клетки не находятся под защитой иммунной системы организма, во избежание инфекции обычно приходится добавлять в среду антибиотики. Необходимо также внимательно следить за рН среды, температурой, содержанием кислорода и углекислого газа. Приходится также контролировать содержание солей и поддерживать определенное осмотическое давление, чтобы обеспечить целостность легко повреждаемых клеточных мембран. Для контроля и поддержания необходимых параметров производители ежегодно совершенствуют аналитические и контрольно-измерительные датчики, интегрируемые в биотехнологическое оборудование.

Культивирование клеток млекопитающих может проводиться в оборудовании различного объема. Как было рассмотрено в главе 1, оборудование имеет различную классификацию. В данной работе рассматривается классификация оборудования по масштабу производства: лабораторный, пилотный и промышленный уровни. Суспензию клеток можно держать просто в

колбе, перемешивая среду магнитной мешалкой. Такие колбы емкостью от 25 мл до 15 л и применяют в лабораториях. Для культивирования клеток, растущих только в прикрепленном состоянии, придумано множество приспособлений: плоскодонные чашки Петри, многолуночные планшеты, разнообразные флаконы и т.д. Лучше всего клетки растут во вращающихся бутылках-сосудах цилиндрической формы, лежащих в горизонтальном положении. Клетки прикрепляются к их внутренней поверхности. При медленном вращении сосуда (около одного оборота в минуту) клетки попеременно то погружаются в питательную среду, то оказываются в воздухе. В самых больших бутылках площадь внутренней поверхности, на которой могут расположиться клетки, составляет около 1600 см<sup>2</sup>. Для выращивания суспензионных клеточных культур разработаны реакторы большого объема. На основании рассмотренных технических документаций производителей биотехнологического оборудования были выделены наиболее часто применяемые типы оборудования.

Кроме того, была использована классификация в соответствии со способом культивирования клеток млекопитающих: адгезивный, суспензионный и адгезивно-суспензионный. На рисунке 2.2 представлена взаимосвязь базовых информационных объектов, выделенных при анализе области культивирования клеток млекопитающих: «Оборудование»-«Клеточные линии».

Из рисунка 2.2 видно, что клеточные линии классифицировались по их типу, а в соответствии с типом появлялась взаимосвязь с областью применения данной клеточной линии.

Стоит отметить, что для культивирования клеточных линий адгезивного типа можно использовать микроносители, представляющие собой мелкие твердые микрочастицы размером 50-400 мкм. Использование микроносителей дает клеткам, обладающим адгезивными свойствами, все преимущества крупномасштабных суспензионных культур, так как при этом сочетаются положительные стороны монослойного и суспензионного культивирования в биореакторе. Клетки прикрепляются к поверхности частиц микроносителя и, размножаясь, образуют сплошной монослой на каждой отдельной частице.

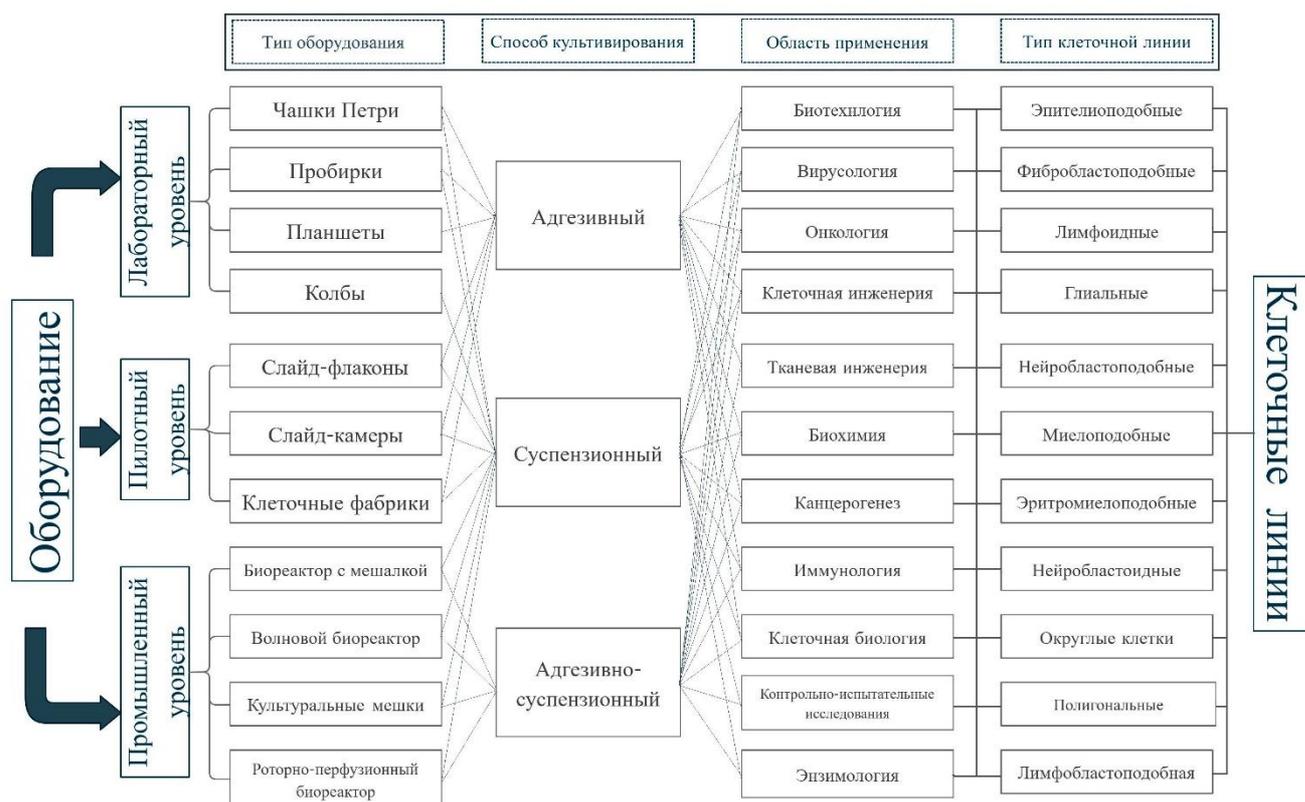


Рисунок 2.2 – Взаимосвязь базовых информационных объектов, выделенных при анализе области культивирования клеток млекопитающих:

#### «Оборудование»-«Клеточные линии»

В настоящее время разработаны многочисленные виды подложек, которые отличаются между собой по составу, по типу покрытия и по технологии получения. В зависимости от химического состава подложки могут иметь различную структуру, форму и электрический заряд поверхности. В данной работе подложки были классифицированы по материалу, из которого они были изготовлены. На рисунке 2.3 представлена взаимосвязь базовых информационных объектов, выделенных при анализе области культивирования клеток млекопитающих: «Клеточные линии»-«Подложка».

Аналогичная взаимосвязь базовых информационных объектов, выделенных при анализе области культивирования клеток млекопитающих: «Оборудование»-«Подложка» представлена на рисунке 2.4.

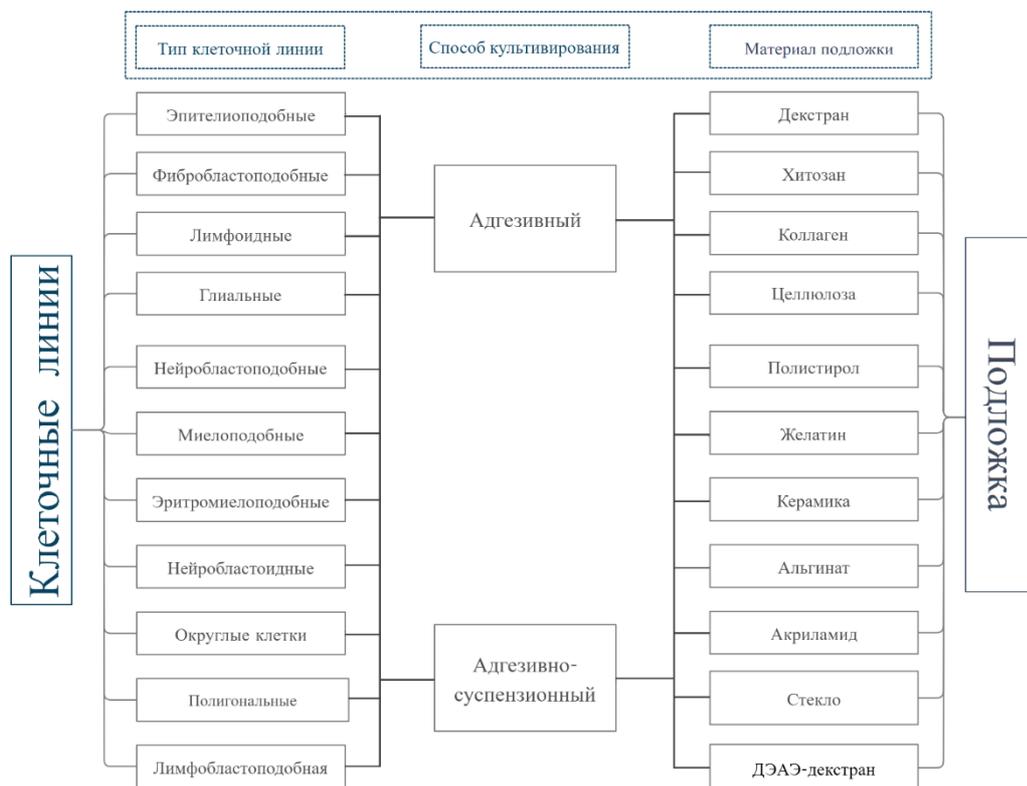


Рисунок 2.3 – Взаимосвязь базовых информационных объектов «Клеточные линии»-«Подложка»

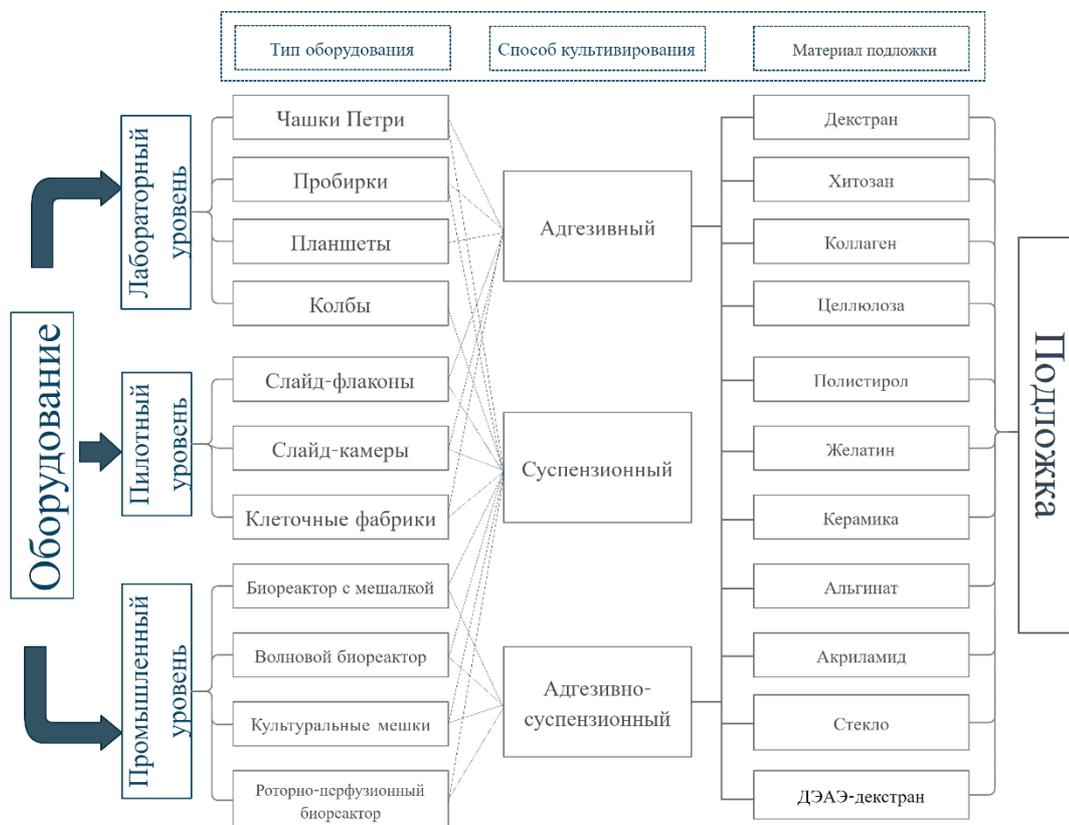


Рисунок 2.4 – Взаимосвязь базовых информационных объектов «Оборудование»-«Подложка»

Таким образом, сбор, систематизация и научно-технический анализ информации об оборудовании, применяемом на биотехнологических производствах, предоставленном российскими и мировыми производителями, позволили разбить множество оборудования на типы, характерные для производства той или иной клеточной линии, найти области пересечения подмножеств, а также определить связи между областью применения и способом культивирования. Анализ технической документации производителей подложек позволил подобрать наиболее выгодную классификацию для установления взаимосвязей между базовыми и связующими объектами. Клеточные линии были классифицированы на основании каталога «Коллекция клеточных линий человека и животных», разработанного Институтом цитологии РАН [146].

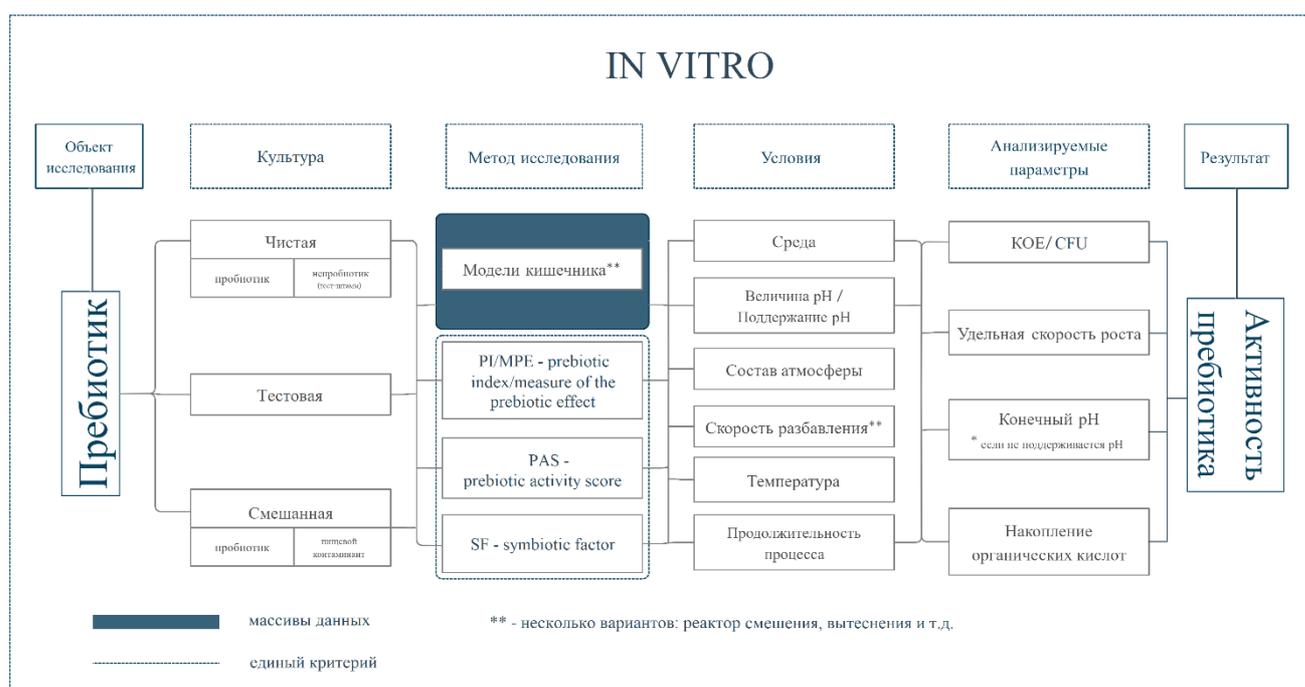
## **2.2 Системный анализ области исследований пребиотической активности**

Пищевая биотехнология – раздел биотехнологии, занимающийся разработкой теории и практики создания пищевых продуктов общего, лечебно-профилактического назначения и специальной ориентации [147]. Пребиотики являются одним из основных и наиболее востребованных ингредиентов функционального питания. Под термином пребиотик подразумевают пищевой ингредиент, который располагается в пищеварительном тракте человека и способен селективно стимулировать рост или активность полезной микрофлоры кишечника, в частности, лакто- и бифидобактерий. Многие проводимые в настоящее время исследования направлены на поиск веществ, обладающих пребиотическими свойствами.

Целью настоящего исследования является системный анализ методов *инвитро* для оценки пребиотической активности ингредиентов пищевого сырья на основе экспериментальных данных, проводимых по всему миру (рисунок 2.5).

На первом этапе были обобщены основные современные методы определения пребиотической активности с использованием ряда пребиотических субстратов. Для исследования в качестве культур были выбраны: чистая, тестовая (фекальная) и смешанная культуры. На основе анализа экспериментов как *инвитро*,

с использованием чистых культур бифидо- и лактобактерий и фекальных культур, так и инвиво определены основные ростовые характеристики. Дальнейшая схема анализа предполагала получение принципиальных параметров роста и ингибирования культур, составление общей модели для смешанной культуры и ее экспериментальную проверку. На рисунке 2.5 приведены анализируемые параметры для оценки пребиотической активности.



**Рисунок 2.5 – Системный анализ области исследований пребиотической активности**

Таким образом, в результате системного анализа области пребиотиков были выбраны методы для оценки пребиотической активности ингредиентов пищевого сырья, выделены анализируемые параметры для оценки пребиотической активности и выработана стратегия дальнейшей разработки информационного блока ИАК.

### **2.3 Общая стратегия достижения целей исследования**

На основании проведенного системного анализа предметных областей была намечена дальнейшая стратегия достижения целей исследования и было принято решение о разработке информационно-аналитического комплекса (рисунок 2.6), позволяющего систематизировать данные в области пребиотиков и процессов

культивирования клеток млекопитающих, хранить, обрабатывать и анализировать их.

## Информационно-аналитический комплекс



Рисунок 2.6 – Структура информационно-аналитического комплекса в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих

Информационно-аналитический комплекс объединяет предметные области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих. Информационный блок ИАК состоит из:

- информационной системы, содержащей базу данных по культивированию клеток млекопитающих и алгоритм подбора системы культивирования клеток. Для удобного пользования информационной системой был разработан графический пользовательский интерфейс;
- клиент-серверной информационной системы, содержащей базу данных «Исследования эффективности пребиотиков». Для удобной работы с информационной системой был разработан веб-интерфейс.

Аналитический блок ИАК состоит из двух частей:

- первая часть аналитического блока посвящена исследованию процесса культивирования клеток млекопитающих на микроуровне, а именно моделированию роста клеток млекопитающих на поверхности микроносителя с использованием клеточно-автоматного подхода;
- вторая часть аналитического блока посвящена исследованию процесса культивирования клеток млекопитающих на макроуровне, а именно моделированию гидродинамических потоков питательной среды в биореакторе.

Информационно-аналитический комплекс, содержащий накопленный опыт в разных сферах биотехнологической отрасли, включает в себя программные модули, предназначенные для анализа данных и расчета параметров проведения процесса культивирования клеток млекопитающих, с целью применения в качестве системы поддержки принятия решений при проведении научно-исследовательских работ или при проектировании и модернизации биотехнологических производств.

Таким образом, проведен системный анализ биотехнологической области как информационного объекта, определены и структурированы связи основных понятий технологии культивирования клеток млекопитающих, подробно рассмотрены такие информационные объекты, как: «Оборудование», «Клеточные линии» и «Подложка», выделены основные отличия и проанализированы различные типы оборудования и клеточных линий. Проанализирована информация, предоставленная ведущими российскими и мировыми производителями оборудования и подложек. Проведена работа по систематизации большого объема данных, полученных в результате многочисленных исследований по всему миру в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих. С учетом принципиальных различий разработана классификация соответствующих технологических решений и аппаратурного оформления. Разработанная классификация основывается на мнениях экспертов – специалистов в области клеточных технологий и биотехнологии.

## **Глава 3. Информационная часть информационно-аналитического комплекса**

### **3.1 Создание базы данных «Система культивирования клеток млекопитающих»**

#### **3.1.1 Структуризация данных. Проектирование концептуальной модели базы данных**

Для проектирования базы данных необходимо учитывать параметры и условия процесса культивирования клеток млекопитающих, изученных на этапе проведения литературного обзора. Концептуальные требования к системе формулируются следующим образом: конечный пользователь, при работе в системе, принимает самостоятельное решение на основе информации, полученной из базы данных. От качества этой информации будет зависеть эффективность процесса культивирования клеток, а также результативность работы пользователя.

Проектирование БД основывается на требованиях:

- должна удовлетворять актуальным информационным потребностям пользователя;
- должна обеспечивать получение требуемых данных в короткие сроки;
- должна быть рассчитана на возможность расширения при модификации и расширении предметной области;
- загруженные данные должны оставаться корректными;
- доступ к данным, размещаемым в БД, должны иметь только лица, ознакомленные с данной предметной областью.

После анализа и структуризации данных из литературных источников были выделены следующие информационные объекты: клетки, оборудование, подложка, область применения, способ культивирования, тип клетки, система культивирования.

Далее была составлена реляционная информационная модель, в которой были определены взаимосвязи между атрибутами одного или разных объектов (логическая модель) и взаимосвязи между объектами (концептуальная модель).

### Проектирование концептуальной модели БД

На этапе разработки концептуальной модели необходимо установить связи между информационными объектами и определить вид этих связей. Существует три типа реляционных отношений (взаимосвязей) между информационными объектами: «один к одному», «один ко многим» и «многие ко многим».

*Взаимосвязь «один к одному».* Связь «один к одному» создается в том случае, когда одна запись в таблице строго связана с одной записью в другой таблице. Допустим, если одна подложка подходит только для одного типа оборудования, тогда между объектами «Подложка» и «Оборудование» устанавливается связь «один к одному». Данные, хранящиеся в объектах «Подложка» и «Оборудование», отражаются в виде двух записей данных в соответствующих таблицах, при этом ни в одной, ни в другой таблице не может существовать записи, не связанной с какой-либо записью в другой таблице. Этот тип связи используется редко, поскольку в такой ситуации связываемые данные обычно можно хранить в одной таблице. В Microsoft Access сторона связи «один к одному», которой соответствует первичный ключ, обозначается символом ключа. Сторона связи, которой соответствует внешний ключ, также обозначается символом ключа (рисунок 3.1).

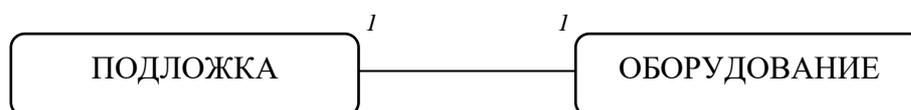


Рисунок 3.1 – Тип связи «один к одному»

*Взаимосвязь «один ко многим».* Связь «один ко многим» – наиболее распространенный вид связи. Например, один тип клеточной линии может культивироваться в разном оборудовании, при этом несколько типов клеток не могут культивироваться в одном и том же оборудовании.

Связь «один ко многим» создается в том случае, когда одна запись в первой таблице может быть связана с одной или больше записями во второй таблице, при этом обратное недопустимо – одна запись во второй таблице может быть связана только с одной записью в первой. В Microsoft Access сторона связи «один ко многим», которой соответствует первичный ключ, обозначается символом ключа.

Сторона связи, которой соответствует внешний ключ, обозначается символом бесконечности (рисунок 3.2).

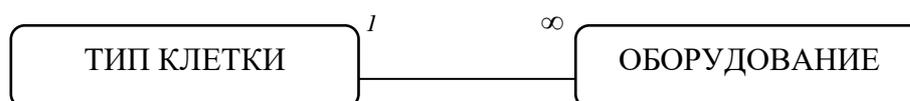


Рисунок 3.2 – Тип связи «один ко многим»

В этом случае одной записи первого объекта будет соответствовать несколько записей второго объекта. В объекте «Клетки» хранятся сведения обо всех типах клеток. При обращении к записи для определенного типа клетки нам доступен список всего оборудования.

*Взаимосвязь «многие ко многим».* При установлении связи «многие ко многим» каждой строке таблицы «Клетки» может соответствовать множество строк таблицы «Оборудование» и наоборот. Такая связь создается при помощи третьей таблицы, называемой соединительной, которая содержит внешние ключи, связанные с таблицами «Клетки» и «Оборудование». Например, в данном случае каждая клетка может культивироваться в разном оборудовании, с другой стороны одно оборудование может быть использовано несколькими клетками. Такая связь в Microsoft Access обозначается символом бесконечности, как это показано на рисунке 3.3.



Рисунок 3.3 – Тип связи «многие ко многим»

В реляционных базах данных схему связи «многие ко многим» нерационально реализовывать, так как в этом случае исходные объекты будут связаны с объектом, который имеет связь «один ко многим», как показано на рисунке 3.4.

На рисунке 3.5 представлена схема разработанной концептуальной модели данных, на которой показаны взаимосвязи между объектами типа «один ко многим».

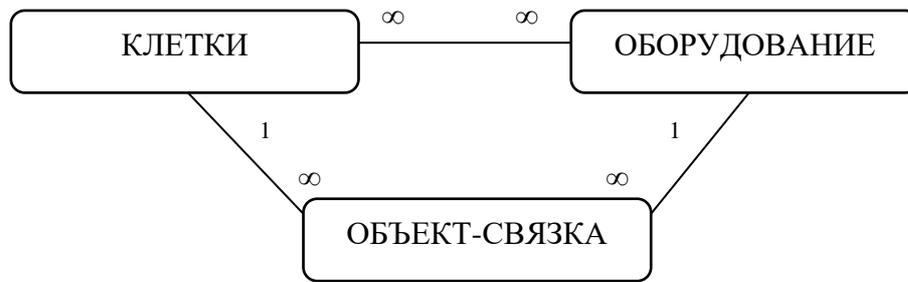


Рисунок 3.4 – Тип связи «один ко многим» через объект-связку

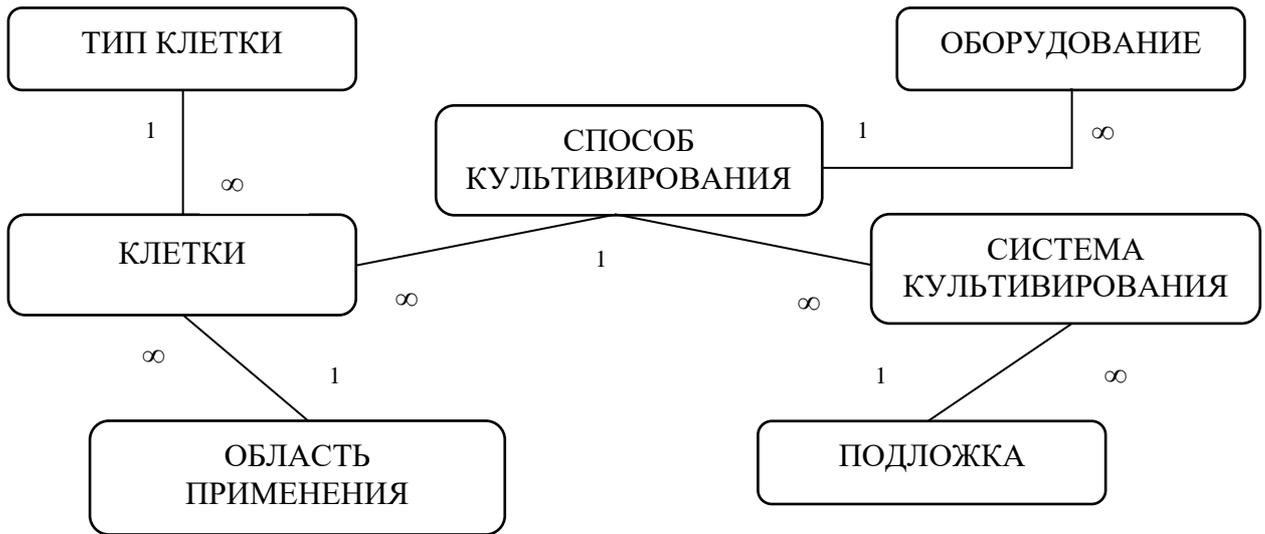


Рисунок 3.5 – Концептуальная схема базы данных

В процессе проектирования неэффективные взаимосвязи «один к одному» были исключены, а взаимосвязи «многие ко многим» для улучшения реляционных взаимодействий были заменены с привлечением объектов-связок на взаимосвязи «один ко многим». Разработанная концептуальная модель легла в основу создания логической модели – модели представления знаний.

### 3.1.2 Проектирование инфологической и физической моделей базы данных

Для каждого объекта необходимо определить атрибуты, которые будут храниться в базе данных. Они необходимы для оперативной работы с данными. Выбор атрибутов является достаточно сложной задачей и требует тщательного анализа предметной области и анализа концептуальной модели. В разрабатываемой БД атрибуты представлены основными полями данных, входящих в систему, и приведены в таблице 3.1.

## Атрибуты информационных объектов в системе баз данных

Объект	Идентификатор	Атрибуты
Клетки	Идентификатор клетки	Идентификатор клетки Идентификатор способа культивирования Идентификатор типа клетки Идентификатор области применения Название клетки Происхождение Условия культивирования Жизнеспособность Контроль контаминации Контроль видовой идентичности Кариология Туморогенность Коллекция и т.д.
Тип клетки	Идентификатор типа клетки	Идентификатор типа клетки Тип клетки
Оборудование	Идентификатор оборудования	Идентификатор оборудования Идентификатор способа культивирования Название оборудования Способ ввода энергии Масштаб производства Рабочий объем Подложка (да/нет) Обработанная поверхность (да/нет) Материал поверхности Одно-/многоцветный Производитель Комментарии
Подложка	Идентификатор подложки	Идентификатор подложки Материал Тип подложки Титр клеток Размер пор Толщина Диаметр Производитель Комментарии
Способ культивирования	Идентификатор способа культивирования	Идентификатор способа культивирования Способ культивирования

Система культивирования	Идентификатор системы культивирования	Идентификатор системы культивирования Идентификатор способа культивирования Идентификатор подложки Идентификатор оборудования Идентификатор клетки Идентификатор области применения Идентификатор типа клетки
Область применения	Идентификатор области применения	Идентификатор области применения Область применения

При переходе от концептуальной модели к логической, каждому объекту концептуальной модели были поставлены таблицы с соответствующими атрибутами объектов. С помощью первичных ключей также были установлены связи между таблицами логической модели.

Идентификатор – это атрибут информационного объекта, который единственным образом идентифицирует запись в таблице объекта.

Инфологическая модель отражает предметную область в виде совокупности информационных объектов и их структурных связей, которые были определены на этапе структуризации данных. Она соответствует представлениям о предметной области, полученным при анализе, систематизации и классификации данных. На рисунке 3.6 представлена инфологическая схема базы данных в области культивирования клеток млекопитающих.

Разработанная логическая модель легла в основу создания системы поиска информации, необходимой для организации процесса культивирования клеток.

Ввод конкретных информационных данных в соответствующие таблицы был осуществлен на этапе физического проектирования БД, а форма таблиц была создана на этапе проектирования логической модели. При вводе данных важно обеспечить точность и безошибочность занесения, хранения и выборки информационных данных из БД. Для этого разработчиками баз данных была предусмотрена функция, обеспечивающая целостность базы данных.

Правильность информационных данных, вводимых в БД для хранения, может быть нарушена, например, из-за программных ошибок, сбоев и неправильном вводе данных. Ограничения целостности в большинстве случаев определяются особенностями предметной области. К ним могут относиться разные объекты БД: атрибуты (поля), записи, таблицы, связи между ними и т.п.

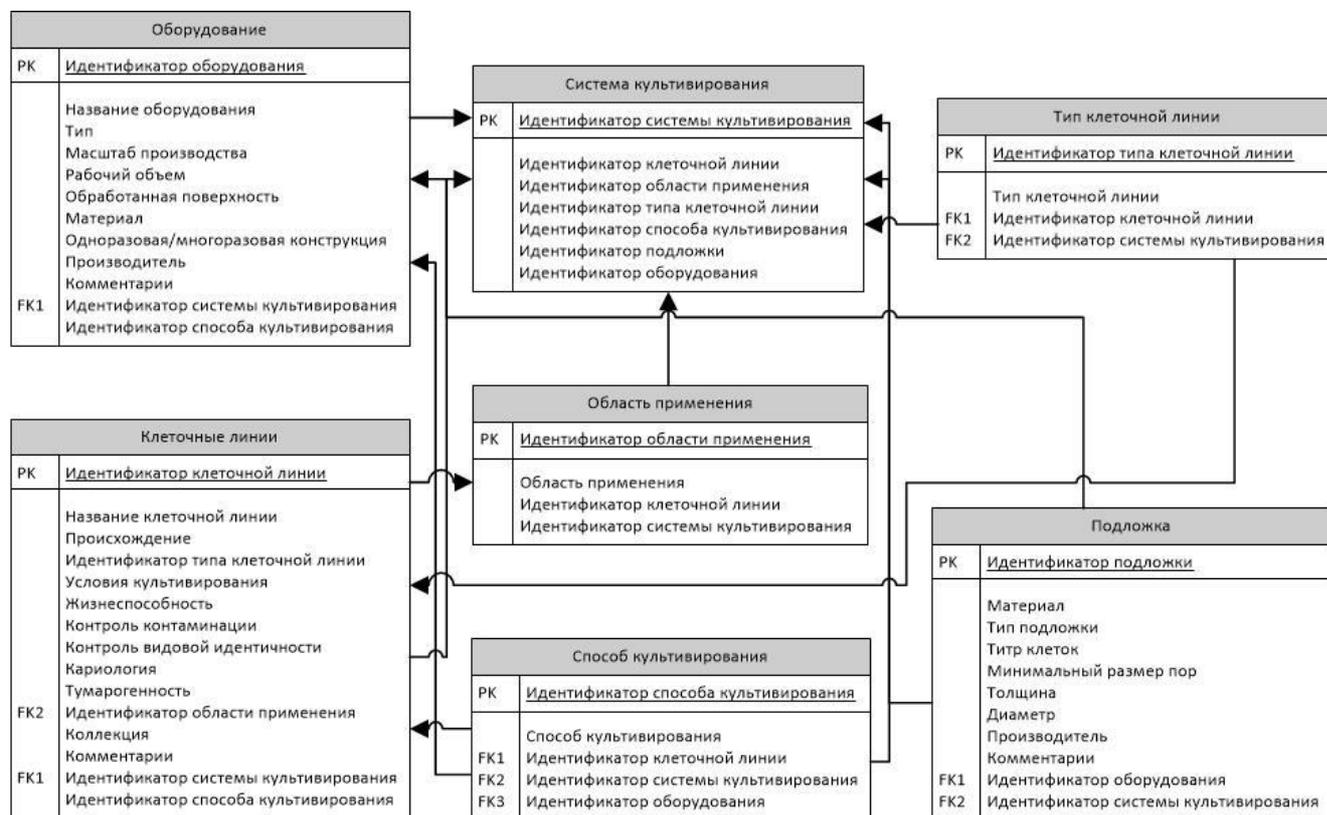


Рисунок 3.6 – Инфологическая схема данных в области культивирования клеток млекопитающих, отражающая связь между всеми группами данных

Пределы допустимых значений данных для полей таблицы задаются следующим образом:

- *тип и формат поля* – позволяет автоматически ограничить длину записываемого в него слова;

- *недопустимость пустого поля в БД, «нулевых» записей*, в которых пропущены какие-либо атрибуты. Например, название клеточной линии не может быть пустым полем, если клетка неизвестна, то пустым является ссылка на него в других таблицах;

- *задание списка допустимых значений атрибута*;

– проверка на уникальность значения поля позволяет избежать записей-дубликатов.

Таким образом, была решена проблема многообразия данных при разработке концептуальной модели БД. Были определены основные таблицы и их поля при разработке логической модели, на этапе физического проектирования были разработаны ограничения целостности, выбраны типы и форматы полей, разработаны ограничения, накладываемые на значения.

При разработке схемы были определены отношения между этими группами данных:

- одна клетка может иметь разные области применения;
- одна клетка может иметь разные системы культивирования;
- в одном оборудовании можно культивировать разные клеточные линии;
- один тип клеток может применяться к разным клеточным линиям;
- одна подложка может подходить для разных клеточных линий и для разного оборудования.

Для заполнения БД была использована информация из различных источников. Существуют базы данных, которые содержат отдельную информацию о способах культивирования клеток. Одним из таких примеров является база данных FuGENE® HD. Данная база содержит набор протоколов, описывающий процесс трансфекции различных клеточных линий. Эти протоколы были разработаны корпорацией Промега или Fugent. Большинство протоколов были проверены в 96-луночном планшете. Другие протоколы, сгенерированные для других типов планшетов, опираются на расчеты и предложены в качестве отправной точки для достижения хороших результатов [148].

Также для заполнения базы данных использовалась информация компании Abcam® discover more, которая занимается культивированием клеточных линий, а также проводит клеточные и биохимические анализы. На сайте [149] можно найти техническое описание, протоколы и ссылки.

Анализ многочисленных исследований в области культивирования клеток млекопитающих показал, что каждая клеточная линия обладает как своими

индивидуальными свойствами, так и общими характеристиками, по которым можно производить сортировку и систематизацию. Рассмотрим подробно информацию в каждой таблице.

Таблица «Клетки» включает в себя такие поля, как «Идентификатор (Id) оборудования», «Название клеточной линии», «Тип клетки», «Способ культивирования» и другие. В данной таблице отражены: морфология клеток, принцип культивирования, возможности посева и возможная область применения. Заполнение данными происходило по результатам анализа ряда источников, основными из которых является каталог Российской коллекции клеточных культур [146], а также экспериментальные данные из научных статей.

Таблица «Оборудование» содержит поля: «Идентификатор (Id) оборудования», «Название оборудования», «Способ культивирования», «Одноразовое/Многоразовое исполнение» и др. Выделены такие геометрические параметры как: режим работы оборудования (динамический/статический), рабочий объем аппарата, а также указан производитель.

Данные о материалах и об их особенностях сосредоточены в таблице «Подложка». В данной части БД рассматриваются все виды подложек (мембраны, скаффолды 2D и 3D, микроносители), их геометрические параметры, материал, из которого они изготовлены, наличие пор, а также максимальное количество клеток, которое удалось на них вырастить. Рассмотрены такие материалы, как: желатин, хитозан, полимолочная и другие полимерные кислоты. Информация сортирована по полям: «Идентификатор (Id) подложки», «Название материала», «Тип поверхности», «Титр клеток», «Минимальный размер пор», «Толщина», «Диаметр» и др. При заполнении данных учитывались не только популярные промышленные подложки, но и варианты подложек, разработанных различными исследователями.

С помощью таблицы «Способ культивирования» осуществляется связь между системой культивирования, соответствующей культурой клеток и оборудованием.

В таблице «Область применения» рассмотрены основные направления применения продуктов, получаемых в результате культивирования клеток: тканевая и клеточная инженерия, вирусология, биофармацевтика и т.д.

На рисунках 3.7-3.10 представлены основные таблицы, содержащие данные о культивировании клеток млекопитающих.

IdField	Field
1	биотехнология
2	вирусология
3	иммунология
6	канцерогенез
7	биохимия
8	клеточная биология
9	клеточная и тканевая инженерия
11	вирусология, онкология
12	канцерогенез, вирусология, контрольно-испытате
13	вирусология, канцерогенез
15	канцерогенез, иммунология
17	вирусология, гастроэнтерология
18	биохимия, иммунология, клеточная биология, ви
19	канцерогенез, клеточная биология
20	метаболизм
21	генетика
22	генетика, канцерогенез, клеточная биология
23	иммунология, биохимия, клеточная биология
24	нейрофизиология
25	нейробиология
26	цитогенетика
27	эндокринология
28	миогенез
29	дифференцировка
30	клеточная и генная инженерия

Рисунок 3.7 – Таблица «Область применения»

IdEquipment	NameEquipment	Mode	IdMethod	ScaleOfProc	WorkingVol	Matrix	TreatedSurf	UntreatedSi
1	Биореактор с перемешиванием	динамический	Адгезивный/сuspензио	лабораторный	любой	1-25 л	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	Роторно-перфузионный биореактор	динамический	Адгезивный/сuspензио	лабораторный	500-5000 мл		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	Чашки	статический	Адгезивный	лабораторный	3-135 мл		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
4	Ферментер-биореактор	динамический	Адгезивный/сuspензио	пилотный	5-30 л		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5	Слайд-камеры	статический	Адгезивный	лабораторный	0,5-4,5 мл		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
6	Биореактор с перемешиванием	динамический	Сuspензионный	любой	1-25 л		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7	2D Культуральные мешки	статический	Адгезивный/сuspензио	любой	50 мл-50 л		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8	Флаконы	статический	Сuspензионный	лабораторный	7-200 мл		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
9	Волновой биореактор	динамический	Адгезивный/сuspензио	любой	1-600 л		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10	Роллерные бутылки	динамический	Адгезивный	промышленн	100-1000 мл		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
11	Роллерные бутылки	динамический	Сuspензионный	промышленн	100-1000мл		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
12	Многолуночные планшеты	статический	Адгезивный	любой	0,5-3 мл/лунок		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
13	Флаконы	статический	Адгезивный	лабораторный	7-70 мл		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
14	Тройные флаконы	статический	Адгезивный	лабораторный	200		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
15	Культуральные системы OptiCell	статический	Адгезивный	лабораторный	10-30 мл		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
16	Многолуночные планшеты	статический	Сuspензионный	любой	0,5-1 мл/лунок		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
17	Чашки	статический	Сuspензионный	лабораторный	3-135 мл		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
18	Пробирки	статический	Адгезивный	лабораторный	3-7 мл		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
19	Слайд-флаконы	статический	Адгезивный	лабораторный	2,5-5 мл		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
20	Клеточные фабрики	статический	Адгезивный	промышленн	200-8000 мл		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
21	Клеточные фабрики	статический	Сuspензионный	промышленн	200-8000 мл		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
22	Планшеты	статический	Адгезивный	любой	13-2000 мкл/л		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
23	Планшеты	статический	Сuspензионный	любой	13-2000 мкл/л		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
24	Биореакторы с перемешиванием	динамический	Адгезивный/сuspензио	промышленн	5-200 л		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
25	3D кубические или цилиндрические ме	динамический	Адгезивный/сuspензио	промышленн	50-3500 л		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Рисунок 3.8 – Таблица «Оборудование»

ID	Name	Origin	IdTy	IdMethod	Cultivation	viability_cry	contaminati	species_cor	caryology	tumorigenicit
1 293		человек, почка эмбриона, клетки, тр	1	Адгезивный	среда - EMEM	90-95% (окрас	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, модал	
3 A-172		человек, глиобластома	2	Адгезивный	среда - DMEM	98% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, модал	не туморогенн
4 A-204v		человек, рабдомиосаркома	1	Адгезивный/с	среда - EMEM	76% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны.
5 A 431		человек, эпидермоидная карцинома	1	Адгезивный	среда - DMEM	83% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в
6 A 549		человек, карцинома легкого	1	Адгезивный	среда - DMEM	97% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в
7 AMN (AMH)		человек, нормальный амнион	1	Адгезивный	среда - 199 сы	80-90% (окрас	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в
8 ASPC-1		человек, метастатическая аденокар	1	Адгезивный	среда - RPMI 1	90% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, модал	туморогенны в
9 ATRC-70		человек, подкожно-жировая клетчат	2	Адгезивный	среда - DMEM	80% (окраска	бактерии, гри	иммунофенот	2n = 46. Эффек	не туморогенн
10 BT-20		человек, аденокарцинома молочной	1	Адгезивный	среда - EMEM	85% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в
11 BT-474		человек, карцинома протока груди	1	Адгезивный	среда - RPMI 1	71% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в
12 Caco-2		человек, аденокарцинома ободочно	1	Адгезивный	среда - EMEM	80% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в
13 Sarpan-2		человек, аденокарцинома поджелуд	4	Адгезивный	среда - RPMI 1	92% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в
14 CCRF-SB		человек, острая В-лимфобластная ле	3	Супспензионн	среда - RPMI 1	75% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	
15 CFTE 290-		человек, трахеальный эпителий	1	Адгезивный	среда DMEM с	90% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	
16 Chang liver		человек, нормальная печень	1	Адгезивный	среда - BME с	96% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	
17 CHEF 392/1 (ЧЭФ 3		человек, кожномышечная ткань нор	2	Адгезивный	среда - EMEM	70-80% (окра	бактерии, гри	кариологичес		
18 Clone 1-5c-4		человек, нормальная конъюнктив	1	Адгезивный	среда - BME с	98% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	
19 COLO 320 HSR		человек, карцинома сигмовидной ки	5	Супспензионн	среда - RPMI 1	85% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в
20 Daudi		человек, лимфома Беркитта	3	Супспензионн	среда - RPMI 1	72-84% (окрас	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в
21 EJ (MGH-U1)		человек, карцинома мочевого пузыр	1	Адгезивный	среда - RPMI 1	90% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенна.
22 FetMSC		человек, мезенхимные стволовые к	2	Адгезивный	среда - DMEM	85% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, модал	
23 FLECH (ФЛЭЧ)		человек, эмбрион, легкое	2	Адгезивный	среда - EMEM	70% (окраска	бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	
24 FLECH 385/13 (ФЛЗ		человек, легкое нормального эмбри	2	Адгезивный	среда - EMEM	70-80% (окра	бактерии, гри	кариологичес		
25 FLECH 985/12 (ФЛЗ		человек, легкое нормального эмбри	2	Адгезивный	среда - EMEM	70-80% (окра	бактерии, гри	кариологичес		
26 FLECH 997/11 (ФЛЗ		человек, легкое нормального эмбри	2	Адгезивный	среда - EMEM	70-80% (окра	бактерии, гри	кариологичес		

Рисунок 3.9 а – Таблица «Клетки»

contaminati	species_cor	caryology	tumorigenicit	other	IdField	collections	Документ
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, модал		чувствительн	биотехнология	ATCC CRL 1573	цент Microsoft Word
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, модал	не туморогенн	чувствительн	канцерогенез, вирусология, контрольно-испытательные	ATCC CRL 1620	цент Microsoft Word
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны.	чувствительн	вирусология, канцерогенез	ATCC CRL 1555	цент Microsoft Word
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в	большое чис	клеточная биология	ATCC CRL 1555	цент Microsoft Word
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в	чувствительн	биотехнология	ATCC CCL 185;	цент Microsoft Word
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел		чувствительн	вирусология	ESCK	цент Microsoft Word
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, модал	туморогенны в	канцерогенез, иммунология		ATCC CRL 1682	цент Microsoft Word
бактерии, гри	иммунофенот	2n = 46. Эффек	не туморогенн	Линия с огран	клеточная и тканевая инженерия	СХЖ РАСХН	цент Microsoft Word
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в	Изоэнзимы Р	канцерогенез	ATCC HTB 19;	цент Microsoft Word
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в	чувствительн	вирусология, канцерогенез	ATCC HTB 20;	цент Microsoft Word
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в	чувствительн	вирусология, гастроэнтерология	ATCC HTB 37; E	цент Microsoft Word
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в	изоэнзимы М	канцерогенез, иммунология	ATCC HTB 80;	цент Microsoft Word
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел		отсутствие си	иммунология	ATCC CCL 120;	цент Microsoft Word
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел		экспрессия к	клеточная биология	ИНЦ РАН.	
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел		чувствительн	вирусология, канцерогенез	ATCC CCL 13; E	
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел		чувствительн	клеточная биология	НИИ гриппа Р,	
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел		чувствительн	вирусология	ATCC CCL 20.2;	
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в	изоэнзимы Р	биохимия	ATCC CCL 220.1	
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенны в	чувствительн	вирусология, канцерогенез	ATCC CCL 213;	
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел	туморогенна.	G6PD, B; PGM	вирусология, онкология	НИИ вирусол	
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, модал		Среднее вре	биотехнология	ИНЦ РАН.	
бактерии, гри	кариологичес	2n=46, предел		чувствительн	биотехнология	ESCK.	
бактерии, гри	кариологичес			чувствительн	клеточная биология	НИИ гриппа Р,	
бактерии, гри	кариологичес			чувствительн	клеточная биология	НИИ гриппа Р,	
бактерии, гри	кариологичес			чувствительн	клеточная биология	НИИ гриппа Р,	

Рисунок 3.9 б – Таблица «Клетки» (продолжение)

IdMatrix	Material	TypeMatrix	Titer	PoreSi	Thicknc	Diameter	InformationManufacturer	Comments
1	Декстран	Матрикс				131-220 Mm	GE Healthcare, Cytodex 1	фибробластоподобные клетки, stirred tank
2	Денатуриро	Матрикс				133-215 Mm	GE Healthcare, Cytodex 3	эпителиоподобные клетки и гепатоциты, stirred tank
4	Целлюлоза	Пористый		30 Mm		200-270 Mm	GE Healthcare, Cytopore 1	моноклональные антитела, рекомбинантные белки
5	Желатин	Пористые						эпителио- и фибробластоподобные клетки, изготавливается из двойной эмульсии с разной скоростью деградации
6	Коллаген-хитозан	Пористый						эпителио- и фибробластоподобные клетки
7	Хитозан	Пористый						эпителио- и фибробластоподобные клетки
8	Коллаген	Пористый						нейробластоподобные клетки

Рисунок 3.10 – Таблица «Подложка»

Всего в базу данных было занесено более 350 записей: около 270 клеток, более 50 единиц оборудования и 25 видов подложек, рассмотрено около 15 областей применения клеток млекопитающих в биомедицине и фармацевтике.

Таким образом, были описаны этапы проектирования БД в области культивирования клеток млекопитающих, начиная от концептуального анализа предметной области и заканчивая стадией заполнения таблиц конкретными данными. Созданная база данных позволяет хранить и обрабатывать данные о процессе культивирования клеток млекопитающих в зависимости от способа культивирования, типа клетки, области применения или других параметров. Данная БД является основой для информационной системы, которая, в свою очередь, позволит получить информацию для проведения эксперимента или планирования производства.

### **3.2 Создание базы данных «Исследования эффективности пребиотиков»**

Многочисленные исследования последних десятилетий в области биотехнологии убедительно показали, что актуальной задачей является создание базы данных, которая будет содержать информацию о пребиотиках, пробиотиках, а также о их активности.

Для сортировки и систематизации информации из различных источников была создана база данных с помощью Microsoft Office Access.

На этапе концептуального проектирования БД были определены основные таблицы и их поля, разработаны ограничения целостности, выбраны типы и форматы полей, разработаны ограничения, накладываемые на значения.

На этапе перехода от концептуальной модели к логической модели каждому объекту концептуальной модели были присоединены таблицы, содержащие соответствующие атрибуты объектов и были установлены связи между таблицами логической модели с помощью первичных ключей. При разработке схемы были определены отношения между группами данных:

- одна среда может применяться к разным пребиотикам;
- один пробиотик может применяться к разным пребиотикам;

- один метод культивирования может применяться к разным пребиотикам;
- один набор метаболитов может подходить для разных пребиотиков и т.д.

На рисунке 3.11 представлена инфологическая схема базы данных «Исследования эффективности пребиотиков». БД включает 11 основных и вспомогательных таблиц, которые представляют собой описание параметров основных элементов системы.

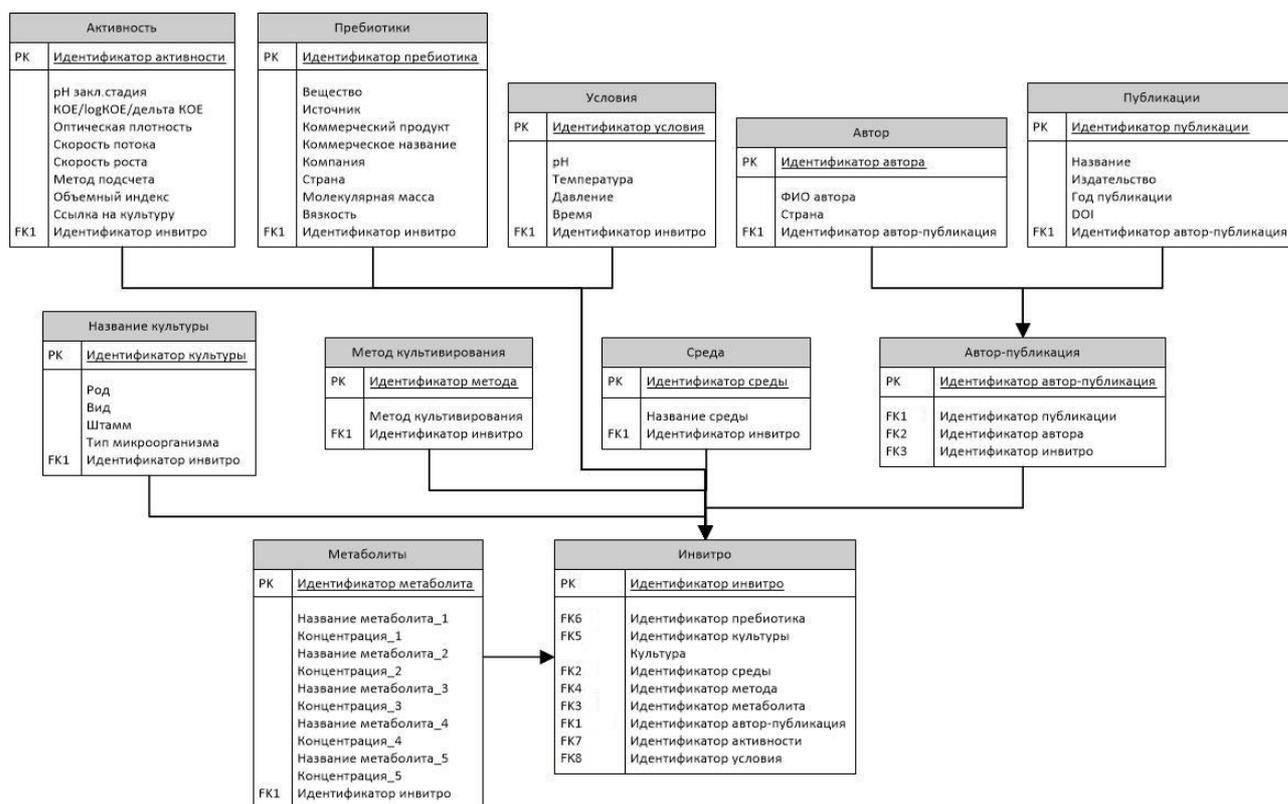


Рисунок 3.11 – Инфологическая схема базы данных «Исследования эффективности пребиотиков», отражающая связь между всеми группами данных

Таблица «Активность» (рисунок 3.12) содержит информацию об основных физиологических и биологических особенностях микроорганизмов. Выделены такие параметры, как: рН на заключительной стадии, показатель количества жизнеспособных микроорганизмов в единице объема, оптическая плотность, указана информация о скорости потока, скорости роста и методах определения пребиотической активности.

В таблице «Условия» (рисунок 3.13) указаны условия культивирования: рН, температура, давление и время.

Таблица «Пребиотики» (рисунок 3.14) содержит ключевые данные о пребиотиках: вещество, источник его получения, коммерческое название, компания-производитель, а также молекулярная масса и вязкость.

Activity \	pHFinal	CFU/logCFU/DeltaCFU	OD	FlowRate	Growthrate, 1/h	MethodOfCalc	ValueIndex	ReferenceCult
65		7,84						
66		8,87				Prebiotic activity score	1,2	
67		9,02				Prebiotic activity score	1,69	
68		7,42				Prebiotic activity score	0,03	
69		10,33				Prebiotic activity score	1,69	
70		10,26				Prebiotic activity score	1,44	
71		9,53				Prebiotic activity score	0,25	
72		3,09		0,25				
73		2,5		0,24		Prebiotic activity score	0,54	
74		2,01		0,08		Prebiotic activity score	0,41	
75		2,44		0,07		Prebiotic activity score	0,55	
76		2,49		0,54		Prebiotic activity score	0,56	
77		2,41		0,14		Prebiotic activity score	0,54	
78		1,8		0,09		Prebiotic activity score	0,3	
79		2,34		0,19		Prebiotic activity score	0,53	
80		2,52		0,14		Prebiotic activity score	0,57	
81		1,5		0,3		Prebiotic activity score	0,2	
82		2,4		0,14		Prebiotic activity score	0,54	
83		1,93		0,11				
84		0,96		0,26		Prebiotic activity score	0,23	
85		0,69		0,08		Prebiotic activity score	0,1	
86		0,56		0,04		Prebiotic activity score	0,05	
87		1,56		0,06		Prebiotic activity score	0,56	
88		0,52		0,04		Prebiotic activity score	0,03	
89		1,76		0,06		Prebiotic activity score	0,63	
90		0,45		0,03		Prebiotic activity score	-0,01	
91		1,48		0,1		Prebiotic activity score	0,53	
92		1,74		0,13		Prebiotic activity score	0,62	
93		0,48		0,02		Prebiotic activity score	0,01	
94				0,13				
95				0,21				

Рисунок 3.12 – Таблица «Активность»

Condition	IdCondition	pH	Temperature	Atmosphere	Time
	1		37		24
	2		37		48
	3	7	37		0
	5	6,7	37		24
	6	7,9	37		48
	7	6,8	37		24
	8	7,3	37		12
	9	6,8	37		18
	10		37		10
	11	7,2	37		1
	12		37		12
	13	6	37		24
	14	7	37		24
	15	6,8	37		12
	16		37	10% (v/v) H2, 10% (v/v) CO2, 80% (v/v) N2	48

Рисунок 3.13 – Таблица «Условия»

Пребиотики	Код	Вещество	Источник	Коммерческий	Коммерческое название	Компания	Страна
	1	Фруктоолигос	цикорий	да	Raftilose P95	Orafti	Бельгия
	2	Фруктоолигос	агава	нет			
	3	Фруктоолигос	тростниковый	да	NutraFlora P-95	Golden	США
	4	Ксилоолигоса		да	XOS Longlive 95P	Shandong Biot	Китай
	5	Инулин	цикорий	да	Inulin-S	Sigma-Aldrich	Англия
	6	Глюкоза		нет			
	7	Инулин	цикорий	да	Raftiline HP	Orafti	Бельгия
	8	Галактоолигос		да	Purified GOS	Yakult Pharma	Япония
	9	Инулин	агава	да	Inulin HP	Orafri	Бельгия
	10	Синерджи 1	агава	да	Synergy 1	Orafri	Бельгия
	11	Олигофруктоз	агава	да	Raftilose P95	Orafri	Бельгия
	12	Фруктоолигос	агава	да	Actilight 950P		Франция
	13	Целлюлоза	агава	да		Sigma-Aldrich	Англия
	14	Лонган DH21	Лонган	нет			
	15	Лонган DH0	Лонган	нет			
	16	Anco Marzio	triticum turgid	нет			Италия
	17	Claudio	triticum turgid	нет			Италия
	18	Iride	triticum turgid	нет			Италия
	19	Levante	triticum turgid	нет			Италия
	20	Orobel	triticum turgid	нет			Италия
	21	Solex	triticum turgid	нет			Италия
	22	Svevo	triticum turgid	нет			Италия
	23	Khorasan	triticum turgid	нет			Италия

Рисунок 3.14 – Таблица «Пребиотики». Ключевые данные о пребиотиках

Данные о микробиологических культурах и об их особенностях сосредоточены в таблице «Название культуры» (рисунок 3.15). В данной части БД рассматриваются различные типы микроорганизмов, их род, вид, штамм. Рассмотрены такие микроорганизмы, как: Бифидобактерии бифидум, Эшерихии коли, Лактобациллы плантариум и др. При заполнении данных учитывались не только популярные коммерческие типы микроорганизмов, но и варианты смешанных типов, изученные различными исследователями.

С помощью таблицы «Автор-публикация» осуществляется связь между таблицами «Автор» (рисунок 3.16) и «Публикации» (рисунок 3.17). В данные таблицы внесены сведения о статьях, из которых была взята информация о научных исследованиях, проводимых по всему миру за последние 10 лет.

Ключевой таблицей, включающей в себя основную информацию, является таблица «Инвитро» (рисунок 3.18). Она связывает информацию из таблиц: «Пребиотики», «Название культуры», «Среда» (рисунок 3.19), «Условия», «Активность», «Метаболиты» (рисунок 3.20) и «Автор-публикация». В таблице «Инвитро» указана информация о культуре (столбец «Культура»), которая может быть чистой, тестовой (фекальной) или смешанной, и информация о методе ферментации – статический или динамический.

Название культуры				
Код	Род	Вид	Штамм	Микроорга
1	Бифидобактерии	бифидум	NCI	Пробиотик
2	Эшерихии	кишечная пал		Не пробиотик
3	Бифидобактерии	адолесцентис	ATCC 15706	Пробиотик
4	Бифидобактерии+Лактобактерии		Faecal	Пробиотик
5	Бактероиды+Клостридии		Faecal	Не пробиотик
6	Бифидобактерии		Faecal	Пробиотик
7	Бифидобактерии	лонгум	15708	Пробиотик
8	Бифидобактерии	адолесцентис	15706	Пробиотик
9	Бифидобактерии	инфантис	17930	Пробиотик
10	Бифидобактерии	бреве	15698	Пробиотик
11	Лактобациллы	ацидофилус	33200	Пробиотик
12	Лактобациллы	ацидофилус	NCFM	Пробиотик
13	Лактобациллы	плантариум	12006	Пробиотик
14	Лактобациллы	плантариум	4008	Пробиотик
15	Лактобациллы	параказеи	1195	Пробиотик
16	Лактобациллы	плантариум	L12	Пробиотик
17	Бифидобактерии	псевдокатену	B7003	Пробиотик
18	Лактобациллы	ацидофилус	La5	Пробиотик
19	Бифидобактерии	лактис	Bb12	Пробиотик
20	Эшерихии	коли	ATCC 25922	Не пробиотик
21	Бифидобактерии		Bif164	Пробиотик

Рисунок 3.15 – Таблица «Название культуры». Данные о микробиологических культурах

Author			
	IdAuthor	NameAuthor	Country
+	58	Brandelli A.	Brazil
+	59	Plou F. J.	Spain
+	60	Ruiz-Matute A. I.	Spain
+	61	Brokl M.	Spain
+	62	Diaz-Vela J.	Mexico
+	63	Soria A. C.	Spain
+	64	Cote G. L.	USA
+	65	Collins M. E.	UK
+	66	Totosaus A.	Mexico
+	67	Arbolea S.	Spain
+	68	Salazar N.	Spain
+	69	Solis G.	Spain
+	70	Fernandez N.	Spain
+	71	Gueimonde M.	Spain
+	72	De los Reyes-Gavilan C.G.	Spain
+	73	Carlson J. L.	USA
+	74	Erickson J. M.	USA
+	75	Hess J. M.	USA
+	76	Gould T. J.	USA
+	77	Slavin J. L.	USA
+	78	Charoensiddhi S.	Australia
+	79	Conlon M. A.	Australia
+	80	Vuaran M. S.	Australia
+	81	Franco C.M.M.	Australia
+	82	Zhang W.	Australia
+	83	Cruz-Guerrero A. E.	Mexico
+	84	Hospattankar A.	USA
+	85	Deng P.	USA
+	86	Swanson K. S.	USA

Рисунок 3.16 – Таблица «Автор». Информация об авторах научных статей

Publication				
	IdPublication	Topic	PublishingHouse	YearPublication
+	1	Functional activity of commercial prebiotics	International Dairy Journal	2007
+	2	Development of a quantitative tool for the comparison	Letters in Applied Microbiology	2003
+	3	Xylo-oligosaccharides enhance the growth of bifidobacteria and Bif Beneficial Microbes		2010
+	4	In vitro evaluation of the fermentation properties and potential pre	Journal of Applied Microbiology	2009
+	5	Prebiotic activity score and bioactive compounds in longan (Dimoc	Journal of Food Science and T	2014
+	6	Prebiotic effect of soluble fibres from modern and old durum-type	Wiley Online Library	2012
+	7	Developing a quantitative approach for determining the in vitro pre	Elsevier	2004
+	8	Prebiotic effects of cassava bagasse inTNO's in vitro model of the c	Elsevier	2014
+	9	Validation of a Three-Stage Compound Continuous Culture System	Springer-Verlag New York	1998
+	10	In Vitro Fermentation by Human Fecal Microflora of Wheat Arabinc	American Chemical Society	2007
+	11	Digestibility and Prebiotic Properties of Potato Rhamnogalacturona	Accepted manuscript	2016
+	12	Comparison of the in vitro bifidogenic properties of pectins and pec	Journal of Applied Microbiology	2002
+	13	Evaluation of Prebiotic Property in Edible Mushrooms	Science Signpost Publishing	2016
+	14	Analysis of fermentation selectivity of purified galactooligosacchar	Springer Verlag	2013
+	15	Effect of Dextranucrase Cellobiose Acceptor Products on the Grov	Journal of Agricultural and foc	2011
+	16	In vitro evaluation of the impact of human background microbiota	British Journal of Nutrition	2013
+	17	Prebiotic Dietary Fiber and Gut Health: ComparingtheinVitoFermer	MDPI	2017
+	18	Impact of extraction processes on prebiotic potential of the brown	Journal of functional foods	2016
+	19	Prebiotic Effects and Fermentation Kinetics of Wheat Dextrin and P	Journal Foods	2015
+	20	In vitro prebiotic activities of tamarillo (Solanum betaceum Cav.) h)	Journal of functional foods	2015
+	21	Fermentation properties and potential prebiotic activity of Bimuno'	British Journal of Nutrition	2016
+	22	Structural features and assessment of prebiotic activity of refined ε	Journal of functional foods	2013
+	23	Assessment of prebiotic potential of Akpan-yoghurt-like product an	Journal of functional foods	2015
+	24	In Vitro Fermentation Profiles, Gas Production Rates, and Microbio	Journal of Agricultural and foc	2009
+	25	Fermentation Profiles of Wheat Dextrin, Inulin and Partially Hydroly	Nutrients (journal)	2013
+	26	Effect of pH and Dose on the Growth of Gut Bacteria on Prebiotic C	Anaerode (journal)	2002
+	27	Fermentation properties of gentio-oligosaccharides	Letters in Applied Microbiology	2001
+	28	A comparative in vitro evaluation of the fermentation properties of	Journal of Applied Microbiology	2001
+	29	In vitro evaluation of the fermentation properties of galactooligosac	Appl Microbiol Biotechnol	2004
+	30	Biological activities of wheat middlings bioprocessed with Bacillus s	LWT - Food Science and Techn	2017

Рисунок 3.17 – Таблица «Публикации». Информация о научных статьях

InVitro									
IdVitro	IdPrebio	IdNameCult	Culture	IdMedium	IdCondition	IdMethodOfCult	IdActivity	IdMetabolits	IdPublication
379	3	6	Faecal	2	12	Static	343	70	24
380	1	6	Faecal	2	12	Static	344	71	24
381	92	6	Faecal	2	12	Static	345	72	24
382	94	6	Faecal	2	12	Static	346	73	24
383	93	6	Faecal	2	12	Static	347	74	24
384	95	6	Faecal	2	12	Static	348	75	24
385	96	6	Faecal	2	12	Static	349	76	24
386	12	6	Faecal	2	12	Static	350	77	24
387	97	6	Faecal	2	12	Static	351	78	24
388	98	6	Faecal	2	12	Static	352	79	24
389	99	6	Faecal	2	12	Static	353	80	24
390	3	59	Faecal	2	12	Static	354	70	24
391	1	59	Faecal	2	12	Static	355	71	24
392	92	59	Faecal	2	12	Static	356	72	24
393	94	59	Faecal	2	12	Static	357	73	24
394	93	59	Faecal	2	12	Static	358	74	24
395	95	59	Faecal	2	12	Static	359	75	24
396	96	59	Faecal	2	12	Static	360	76	24
397	12	59	Faecal	2	12	Static	361	77	24
398	97	59	Faecal	2	12	Static	362	78	24
399	98	59	Faecal	2	12	Static	363	79	24
400	99	59	Faecal	2	12	Static	364	80	24
401	79	6	Faecal	12	12	Static	365	81	25
402	101	6	Faecal	12	12	Static	366	82	25
403	100	6	Faecal	12	12	Static	367	83	25
404	79	59	Faecal	12	12	Static	368	81	25
405	101	59	Faecal	12	12	Static	369	82	25
406	100	59	Faecal	12	12	Static	370	83	25
407	1	6	Faecal	14	13	Static	371	84	26

Рисунок 3.18 – Таблица «Инвитро». Ключевая таблица, объединяющая основные данные из других таблиц

Medium	
IdMedium	NameMedium
1	MRS
2	Hemin-cystein-vitamin K (Rycroft et al., 2001)
3	Synthetic ileal fluid (Macfarlane et al., 1998)
4	TPY
5	LB
6	Trypticase peptone fermentation media
7	Trypticase, micromineral solution, buffer solution
8	Tricase peptone fermentation media
9	Hemin-cystein-vitamin K (Rycroft et al., 2001) + 1 g
10	Hemin-cystein-vitamin K (Rycroft et al., 2001) + 0,5 g
11	Hemin-cystein-vitamin K (Rycroft et al., 2001) + 0,33 g
12	Trypticase soya broth (TSB) (Jaskari et al., 1998)
13	Trypticase peptone, sodium bicarbonate, ammonium bicarbonate, calcium chloride
14	Hemin-cystein-vitamin K (Rycroft et al., 2001) + 1%
15	Hemin-cystein-vitamin K (Rycroft et al., 2001) + 2%
17	TY broth (tryptone, yeast extract, , tween, l-cysteine HCl monohydrate)
18	BMIF

Рисунок 3.19 – Таблица «Среда». Информация о среде для ферментации микроорганизмов

Metabolits									
IdMetabolits	NameMetabolits_1	Concentration_1	NameMetabolits_2	Concentration_2	NameMetabolits_3	Concentration_3	NameMetabolits_4	Concentration_4	NameMetabolits_5
2	Acetic acid (mmol/l)	29,85	Propionic acid (mmol/l)	18,32	Butyric acid (mmol/l)	0,98			
3	Lactic acid (mmol/l)	8,6	Acetic acid (mmol/l)	29,7	Propionic acid (mmol/l)	9,2	Butyric acid (mmol/l)	9,2	
4	Lactic acid (mmol/l)	2,3	Acetic acid (mmol/l)	40,8	Propionic acid (mmol/l)	7,9	Butyric acid (mmol/l)	12,9	
5	Lactic acid (mmol/l)	3,5	Acetic acid (mmol/l)	34,8	Propionic acid (mmol/l)	6,5	Butyric acid (mmol/l)	10,7	
6	Lactic acid (mmol/l)	0,5	Acetic acid (mmol/l)	34,5	Propionic acid (mmol/l)	7,5	Butyric acid (mmol/l)	13,2	
7	Formate (mmol/l)	10,2	Acetate (mmol/l)	49,8	Propionate (mmol/l)	3,08	Butarate (mmol/l)	1,94	
8	Formate (mmol/l)	14,3	Acetate (mmol/l)	45,2	Propionate (mmol/l)	15	Butarate (mmol/l)	2,05	
9	Formate (mmol/l)	11,4	Acetate (mmol/l)	49,7	Propionate (mmol/l)	3,03	Butarate (mmol/l)	1,68	
10	Formate (mmol/l)	4,91	Acetate (mmol/l)	49,6	Propionate (mmol/l)	1,42	Butarate (mmol/l)	2,75	
11	Lactic acid	5,26	Acetic acid	18,55	Propionic acid	8,6	Butyric acid	2,61	
12	Lactic acid	22,44	Acetic acid	22,28	Propionic acid	4,64	Butyric acid	0,76	
13	Lactic acid	9,23	Acetic acid	22,61	Propionic acid	6,05	Butyric acid	1,65	
14	Lactic acid	9,03	Acetic acid	25,6	Propionic acid	5,91	Butyric acid	1,76	
15	Lactic acid	10,29	Acetic acid	27,21	Propionic acid	6,06	Butyric acid	1,61	
16	Lactic acid	6,33	Acetic acid	17,42	Propionic acid	5	Butyric acid	1,1	
17	Lactic acid	13	Acetic acid	23,36	Propionic acid	5,27	Butyric acid	1	
18	Lactic acid	17,39	Acetic acid	30	Propionic acid	4,58	Butyric acid	1,15	
19	Lactic acid	15,86	Acetic acid	30,07	Propionic acid	4,77	Butyric acid	1,27	
20	Lactic acid	6,46	Acetic acid	25	Propionic acid	6,21	Butyric acid	1,5	
21	Acetate (mmol/l)	5,4	Propionate (mmol/l)	5	Butarate (mmol/l)	8			
22	Acetate (mmol/l)	5	Propionate (mmol/l)	3,8	Butarate (mmol/l)	13			
23	Acetate (mmol/l)	7,2	Propionate (mmol/l)	2,5	Butarate (mmol/l)	12			
24	Acetate (mmol/l)	4,1	Propionate (mmol/l)	3,2	Butarate (mmol/l)	14			
25	Acetate (mmol/l)	6,2	Propionate (mmol/l)	4,1	Butarate (mmol/l)	9,9			
26	Acetic acid (mmol/l)	22,81	Propionic acid (mmol/l)	29,61	Butyric acid (mmol/l)	9,22	Valeric acid (mmol/l)	0,78	Caproic acid (mmol/l)
27	Acetic acid (mmol/l)	23,67	Propionic acid (mmol/l)	36,79	Butyric acid (mmol/l)	3,85	Valeric acid (mmol/l)	0,58	Caproic acid (mmol/l)
28	Acetic acid (mmol/l)	20,59	Propionic acid (mmol/l)	36,25	Butyric acid (mmol/l)	4,27	Valeric acid (mmol/l)	0,81	Caproic acid (mmol/l)
29	Acetic acid (mmol/l)	21,05	Propionic acid (mmol/l)	31,74	Butyric acid (mmol/l)	4,12	Valeric acid (mmol/l)	0,29	Caproic acid (mmol/l)
30	Acetic acid (mmol/l)	18,32	Propionic acid (mmol/l)	49,89	Butyric acid (mmol/l)	3,84	Valeric acid (mmol/l)	0,4	Caproic acid (mmol/l)

Рисунок 3.20 – Таблица «Метаболиты». Информация о метаболитах

База данных содержит 25 родов пробиотиков или их комбинаций, 59 видов пробиотиков, 140 пребиотических веществ, 61 компанию по производству пребиотиков, 2 метода ферментации и 271 проанализированную статью.

Таким образом, созданная база данных позволяет хранить и обрабатывать данные о пробиотиках как известных, так и созданных экспертами, и о различных веществах, которые могут служить пребиотиками. Большое внимание уделяется методам ферментации и различным подходам оценки пребиотической активности. Созданная информационная БД позволяет анализировать и сравнивать большое количество данных, которые могут быть использованы для проведения будущих исследований.

### **3.3 Разработка локальной информационной системы в области культивирования клеток млекопитающих**

Для разработки системы использовалась классическая схема проектирования информационной системы (рисунок 3.21), которая была адаптирована для конкретной задачи. На первом этапе производилась оценка мнения экспертов и осуществлялся сбор информации из литературных источников (статьи, публикации, техническая документация). На основе собранной информации была создана БД, с помощью которой был разработан логический алгоритм работы ИС.

Завершающий этап – реализация ИС и создание приложения с дружественным интерфейсом.

Разрабатываемая система преследовала следующие цели:

- систематизация разрозненной информации об условиях и оборудовании для культивирования клеток млекопитающих;
- анализ существующего опыта по культивированию клеток млекопитающих и применение его при проведении научно-исследовательских работ. Данная информационная система включает в себя справочную часть в виде базы данных;
- подбор необходимой системы для проведения процесса культивирования клеток млекопитающих.

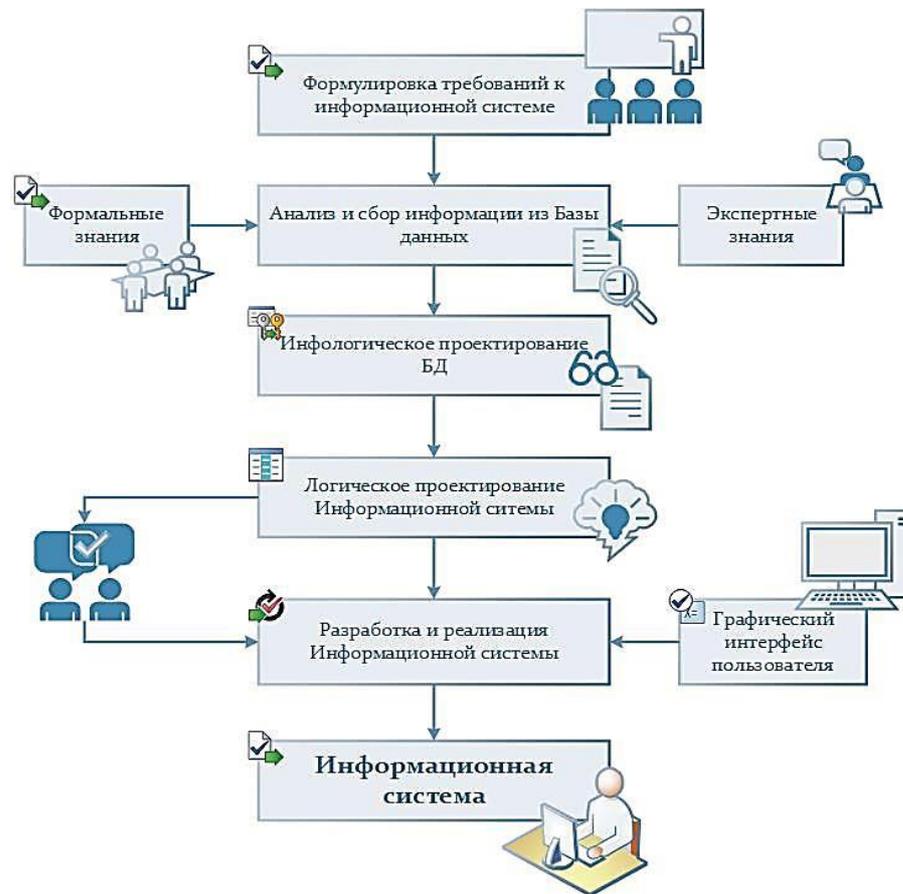


Рисунок 3.21 – Схема поэтапного проектирования информационной системы

Система позволит значительно экономить затраты на экспериментальные исследования, трудовые затраты, технические ресурсы и время.

Для того чтобы осуществлять быстрый и удобный поиск информации было разработано приложение с дружественным интерфейсом в программном продукте *Microsoft Visual Studio 2015 ОС Windows 10*, который содержит современные технологии в области программирования. На рисунке 3.22 представлена главная страница ИС.

Данное приложение содержит такие модули, как:

- *База данных*, с помощью данной функции осуществляется переход в базу данных, где можно вносить и изменять данные;
- *Поиск по параметрам* позволяет отсортировать информацию по необходимым параметрам;
- *Алгоритм по подбору системы культивирования* – эта вкладка содержит логический алгоритм подбора системы культивирования;
- *О программе* – описание приложения.

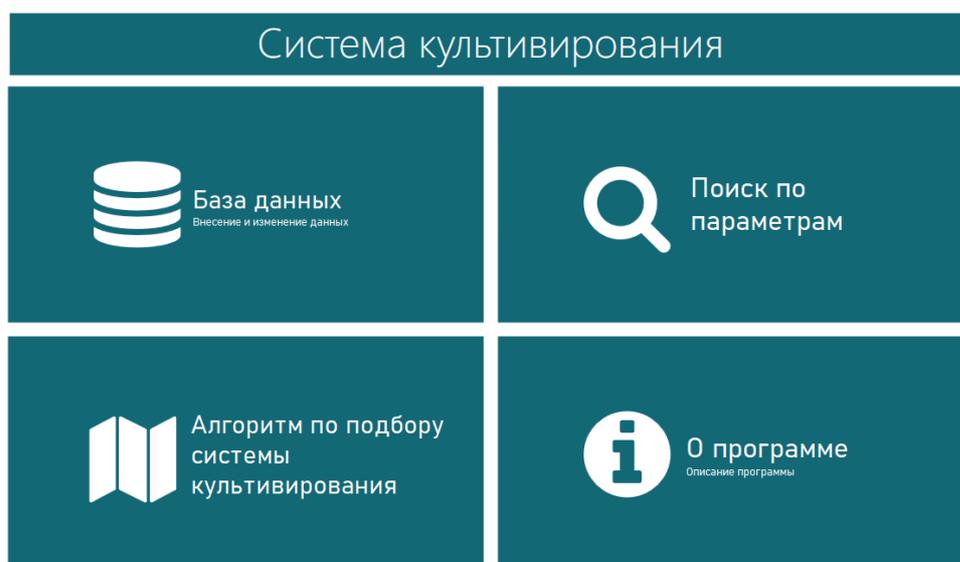


Рисунок 3.22 – Главная страница приложения информационной системы

Система обладает функциональной полнотой, то есть в рамках конкретной предметной области она обеспечивает выполнение требований пользователя, а также позволяет накапливать и обрабатывать информацию.

#### *Информационно-поисковый модуль «Поиск по параметрам»*

Для того, чтобы разработать свою методику поиска по параметрам был проведен анализ технической документации компаний, производящих оборудование, подложки и т.п. Выделены основные параметры для поиска информации (рисунки 3.23-3.24), такие как: «Название клетки», «Тип клетки», «Способ культивирования», «Оборудование», «Область применения» и «Подложка».

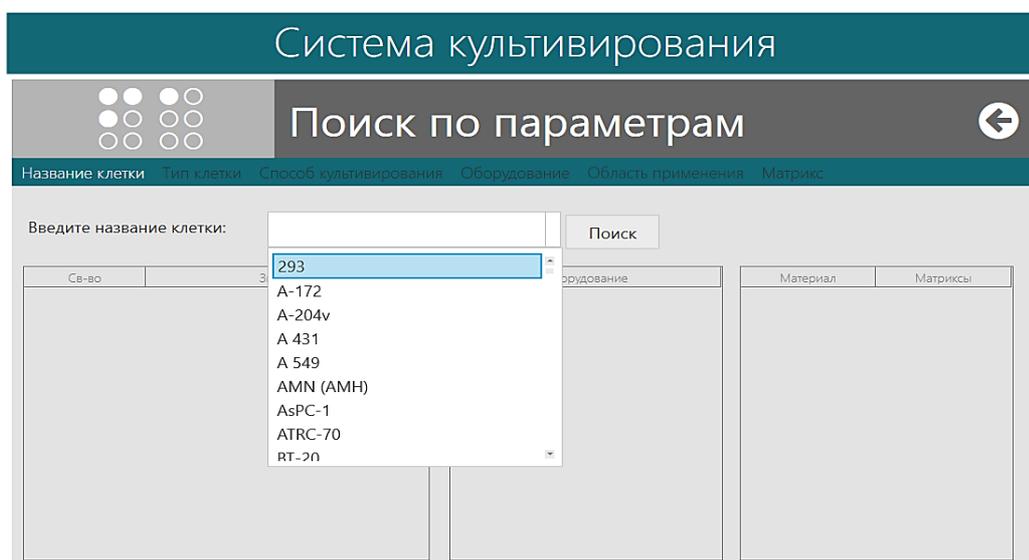


Рисунок 3.23 а – Поиск по параметру «Название клетки»

## Система культивирования

### Поиск по параметрам

Название клетки   Тип клетки   Способ культивирования   Оборудование   Область применения   Матрикс

Введите название клетки:

Св-во	Значение	Оборудование	Материал	Матрицы
Название	293	Чашки	Полистирол	Матрикс
origin	человек, почка эмбриона, клетки, трансформированные ДНК аденовируса типа	Слайд-камеры	Коллаген	Пористый скаффолд
Тип	эпителиоподобная	Роллерные бутылки	PLGA-коллаген	Пористый трубчатый скаффолд
метод	адгезивный	Многолуночные планшеты	Поли-D-лизин	Пластина
Условия культивации	среда - EMEM или DMEM (ИНЦ РАН) сыворотка - эмбриональная бычья (или по ATCC инактивированная лошадиная) -10% др. компоненты - NEAA 1% (EMEM) процедура пересева - снятие клеток, используя трипсин 0.25%; версен 0.02% (1:2-1:3), кратность рассева 1:2 - 1:3, оптимальная плотность 3.0-5.0x104 кл/см2, клетки прикрепляются к субстрату в течение нескольких дней, криоконсервация - ростовая среда, 10% DMSO, 1.0x106 клеток/мл в ампуле	Флаконы	Керамика	Диск
Сфера применения	биотехнология	Тройные флаконы	Полистирол	Матрикс
Коллекции	ATCC CRL 1573; ECACC 85120602; ИНЦ РАН.	Культуральные системы OptiCell	Поли-D-лизин	Пластина
		Пробирки	Полистирол	Матрикс
		Слайд-флаконы	Полистирол	Матрикс
		Клеточные фабрики	Коллаген-хитозан	Пористый скаффолд
		Планшеты	Коллаген	Пористый скаффолд
		Роторно-перфузионный биореактор	PLGA-коллаген	Пористый трубчатый скаффолд
			Поли-D-лизин	Пластина

Рисунок 3.23 б – Результат поиска по параметру «Название клетки»

После нажатия кнопки «Поиск» система выдает результат, в котором содержится информация о: названии клетки, ее происхождении, условиях культивирования, оборудовании, подходящем для культивирования данной клеточной линии, а также типах подложек.

## Система культивирования

### Поиск по параметрам

Название клетки   Тип клетки   Способ культивирования   Оборудование   Область применения   Матрикс

Выберите оборудование:

Mode	Метод культивации	Оборудование	Материал	Матрицы
		Роторно-перфузионный биореактор	UntreatedSurface	M
		Чашки		
		Ферментер-биореактор		
		Слайд-камеры		
		Биореактор с перемешиванием		
		2D Культуральные мешки		
		Флаконы		
		Волновой биореактор		
		Роллерные бутылки		

Рисунок 3.24 а – Поиск по параметру «Оборудование»

## Система культивирования

● ● ● ●
● ● ● ●
● ● ● ●

### Поиск по параметрам

←

Название клетки
Тип клетки
Способ культивирования
Оборудование
Область применения
Матрикс

Выберите оборудование Роторно-перфузионный биореакт Поиск

Mode	Метод культивации	ScaleOfProduction	WorkingVolume	Matrix	TreatedSurface	UntreatedSurface	M
динамический	Адгезивный	пилотный	2000-20000 кв.см.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	полим
динамический	Адгезивный/ суспензионный	лабораторный	500-5000 мл	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Керам

Рисунок 3.24 б – Результат поиска по параметру «Оборудование»

В разделе «Оборудование» рассмотрены динамические и статические системы различного типа, такие как: чашки Петри, флаконы, колбы, слайд-камеры, культуральные мешки, многолуночные планшеты, культуральные системы, волновые биореакторы, ферментеры, роторно-перфузионные реактора и т.д. Указаны масштабы производительности, рабочие объемы, производитель и многие другие параметры, хорошо описывающие конкретный тип оборудования.

Для удобства пользователя на странице располагаются две кнопки «Назад» и «Поиск». При нажатии на кнопку «Назад» происходит возврат на предыдущую страницу.

Таким образом, пользователь может получить общую информацию по конкретному направлению и приоритету в области культивирования клеток млекопитающих. Удобство системы состоит в том, что пользователю не нужно обращаться в различные источники для получения информации, она уже собрана и структурирована по тематике.

#### *Модуль «База данных»*

С помощью данного модуля через диалоговое окно можно вносить новые информационные данные (рисунок 3.25). Выделены основные параметры, по

которым заполняется информационная система: «Название клетки», «Тип клетки», «Способ культивирования», «Оборудование» и «Область применения».

**Система культивирования**

**База данных**

Название клет	Тип клетки	Способ культивирова	Оборудование	Область применения
293	эпителиоподобный	адгезивный	биореактор сешения	биотехнология
A-172	фибробластоподобный	адгезивный	роллерные бутылки	канцерогенез, вирусология, контр
A-204v	эпителиоподобный	адгезивный	культуральные мешки	вирусология, канцерогенез
A-431	эпителиоподобный	адгезивный	роторно-перфузионный био	клеточная биология
A 549	эпителиоподобный	адгезивный	культуральные системы	биотехнология

Click here to add a new row

Название клетки:

Тип клетки:

Способ культивирования:

Оборудование:

Область применения:

**+** Добавить **-** Удалить **💾** Сохранить

Рисунок 3.25 – Модуль «База данных»

Модуль ввода-вывода позволяет в любой момент времени сохранить в специальный файл все информационные объекты (название клетки, тип клетки, оборудование и т.п.), которые пользователь создал в ходе работы с информационной системой. В дальнейшем из такого файла можно загрузить всю информацию и продолжить начатую работу. Формат сохранения данных аналогичен, как и в базе данных.

Таким образом, внесение и сохранение данных через модуль ИС «База данных» позволяет отслеживать новые изменения в работе с БД, вводимые разными пользователями, а также обезопасит ИС от потери или некорректного внесения данных в основной файл БД.

#### *Модуль «Алгоритм по подбору системы культивирования»*

В основе модуля подбора системы культивирования лежит алгоритм, разработанный по рекомендациям из технических документаций различных производителей оборудования и подложек. Кроме того, были приняты во внимание

многочисленные исследования в области культивирования клеток млекопитающих.

На рисунках 3.26 а-г представлена концептуальная схема подбора системы культивирования. Алгоритм по подбору системы культивирования представлен на рисунке 3.27. Данный алгоритм в разработанном программном комплексе называется «Онтология культивирования». С помощью данного алгоритма система позволяет осуществить подбор условий проведения процесса по необходимым параметрам.

# Часть 1

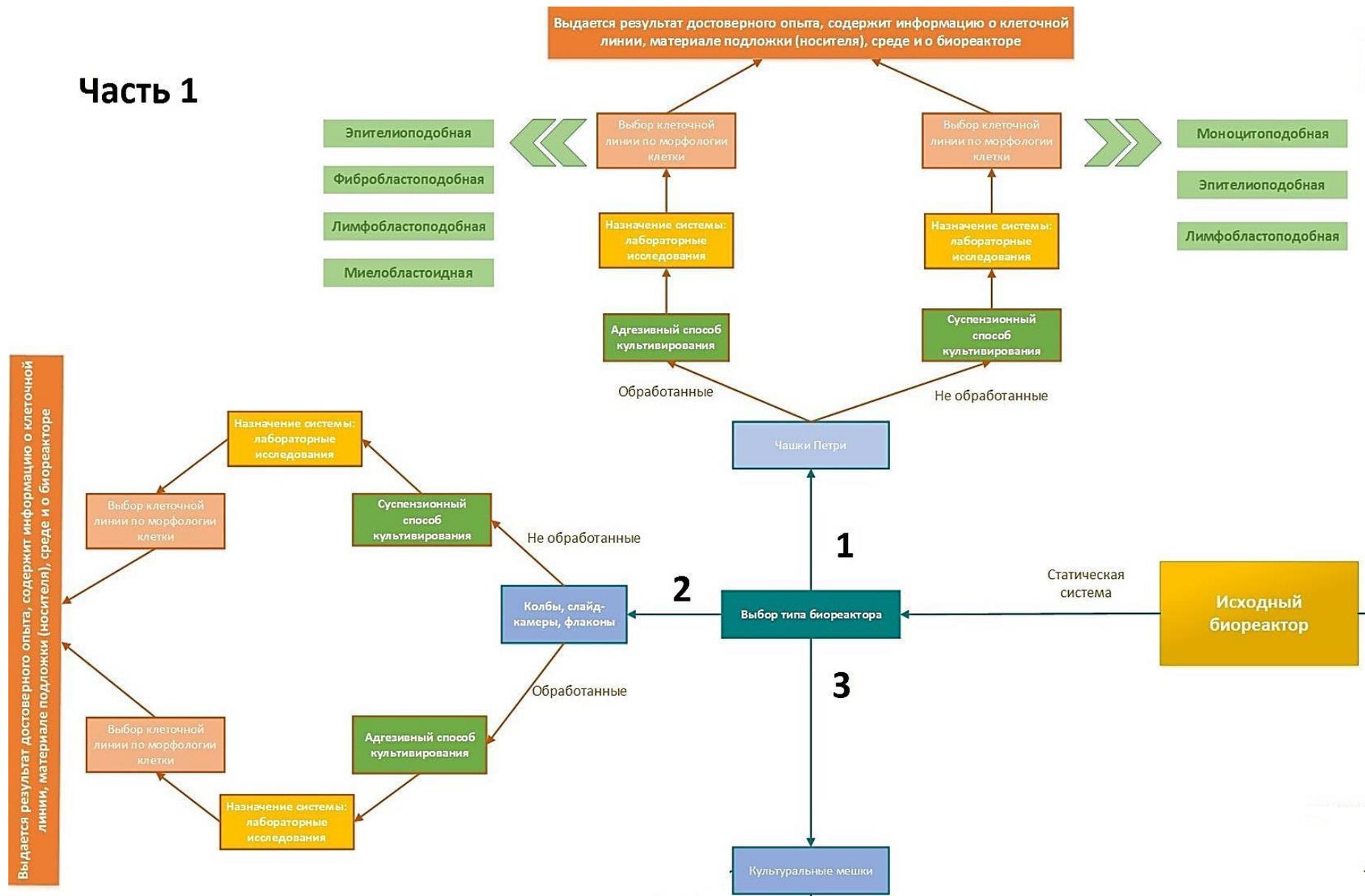


Рисунок 3.26 а – Концептуальная схема подбора системы культивирования (Часть 1)

Часть 2

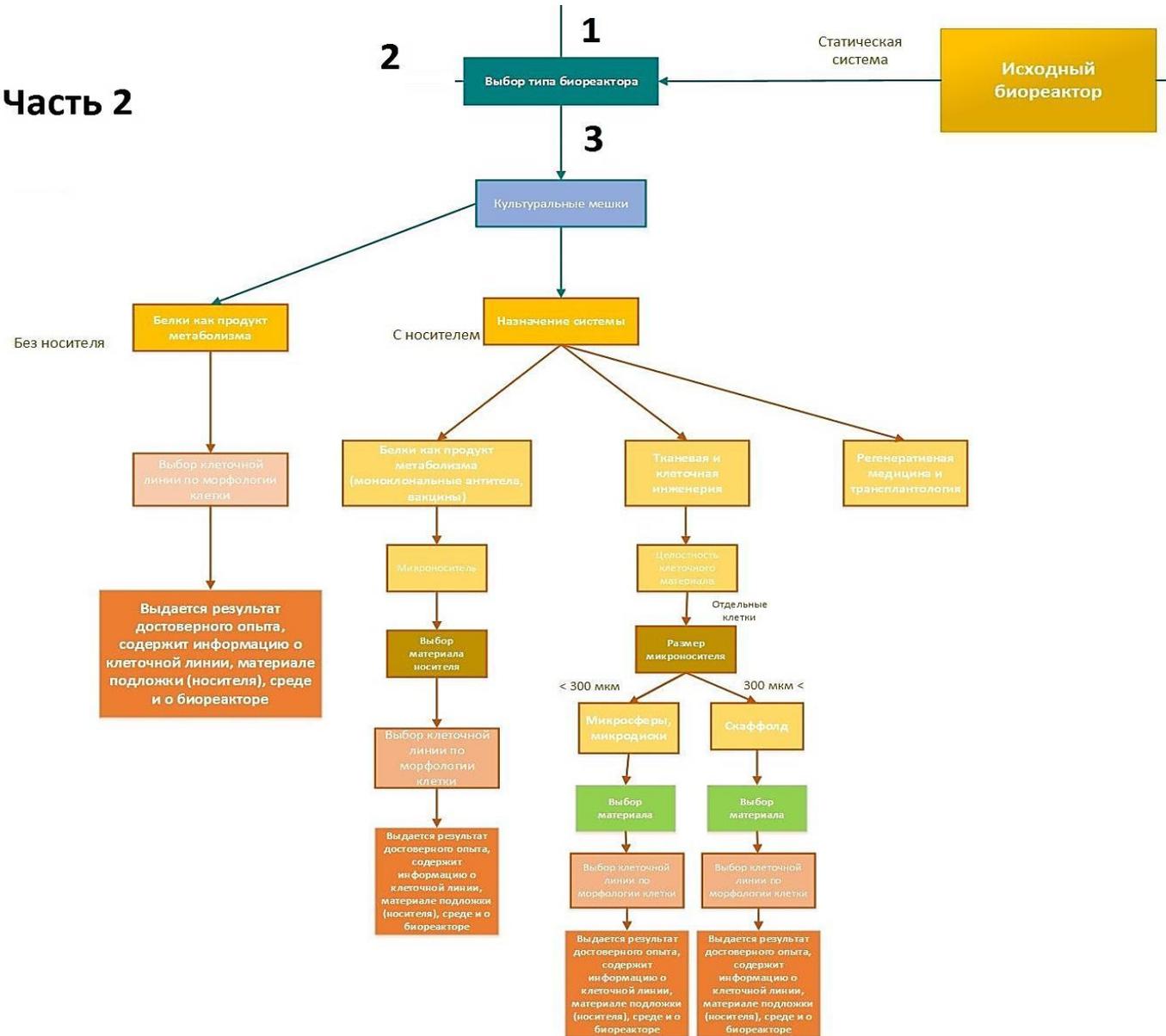


Рисунок 3.26 б – Концептуальная схема подбора системы культивирования (Часть 2)

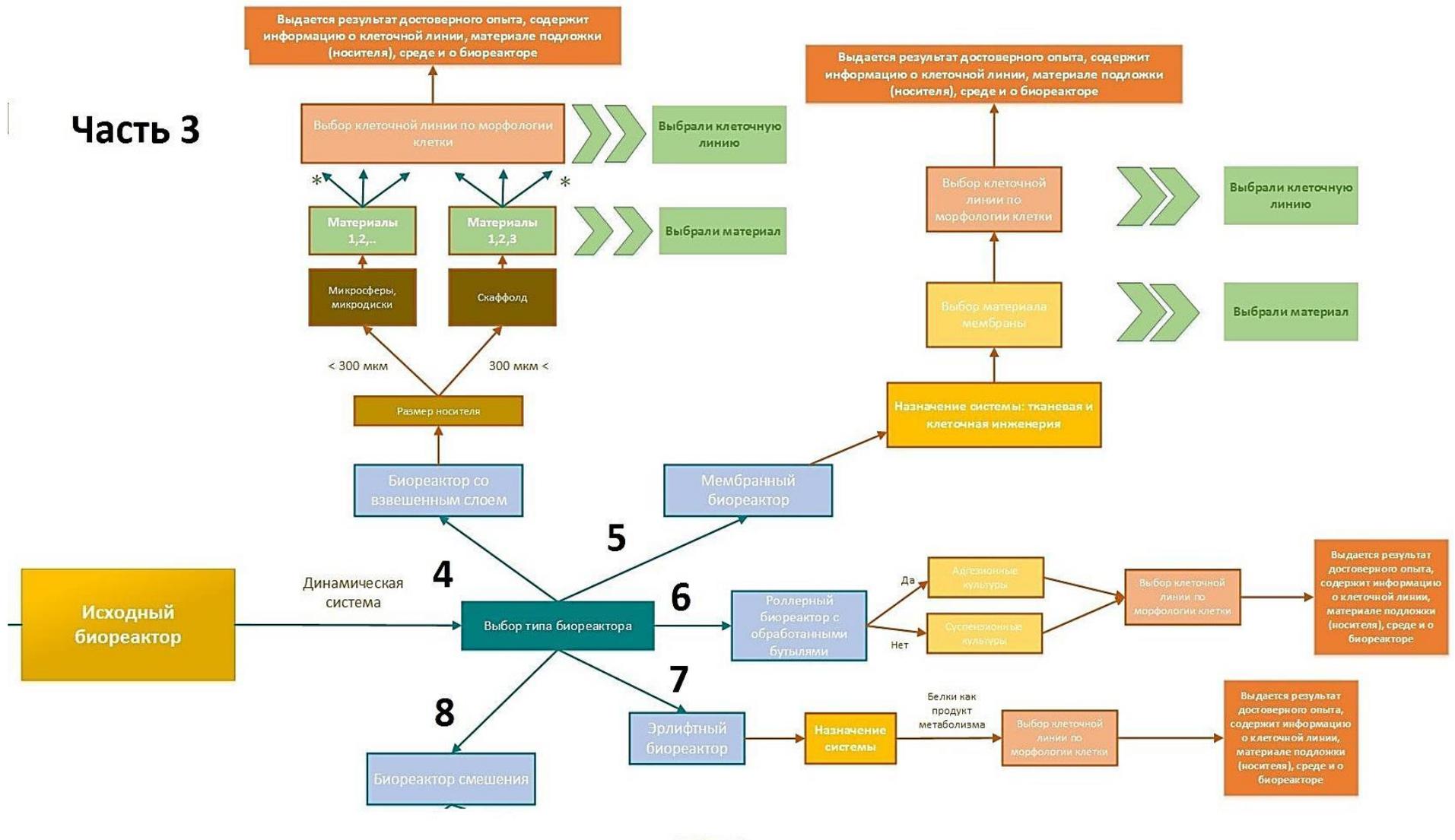
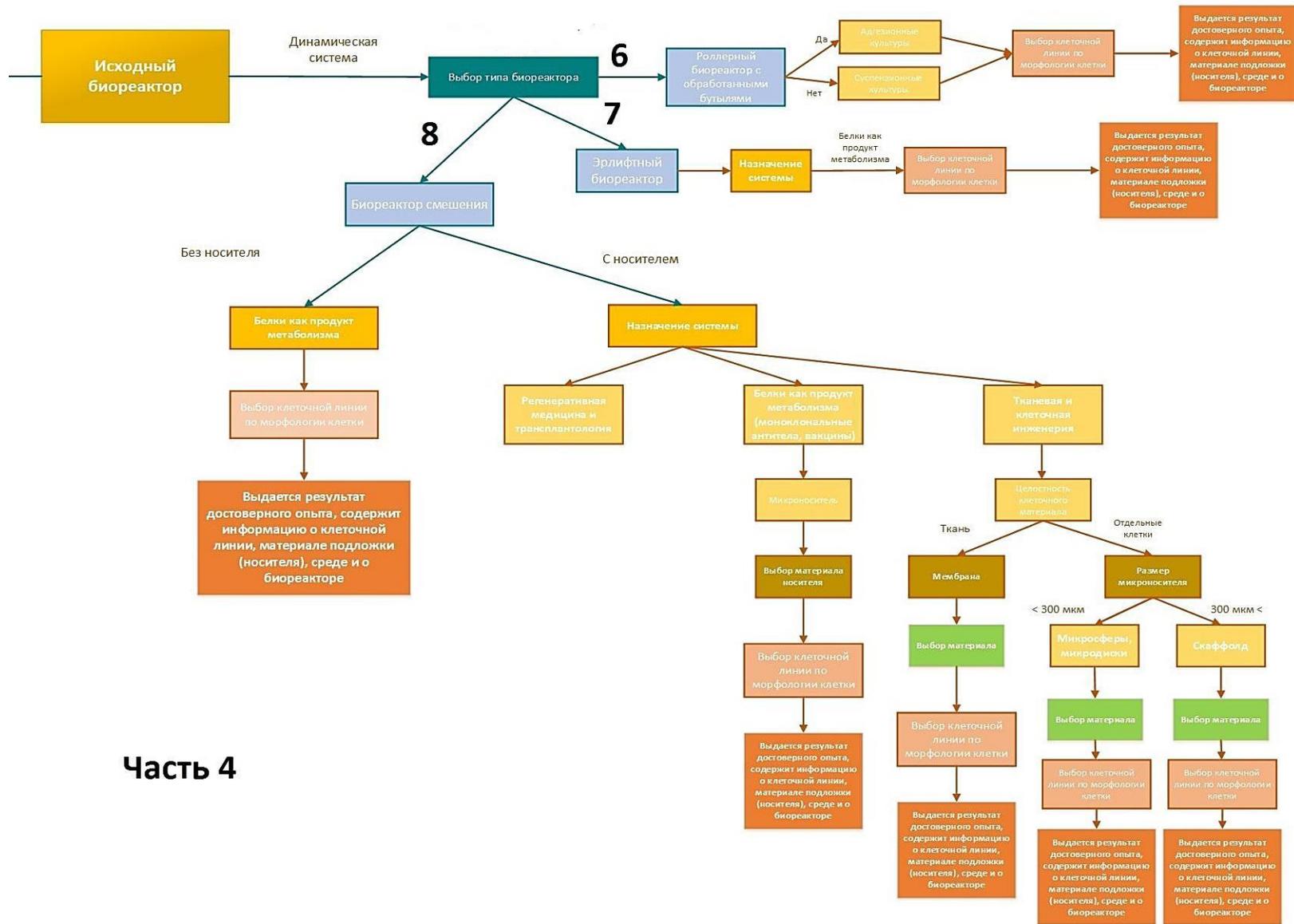


Рисунок 3.26 в – Концептуальная схема подбора системы культивирования (Часть 3)



Часть 4

Рисунок 3.26 г – Концептуальная схема подбора системы культивирования (Часть 4)

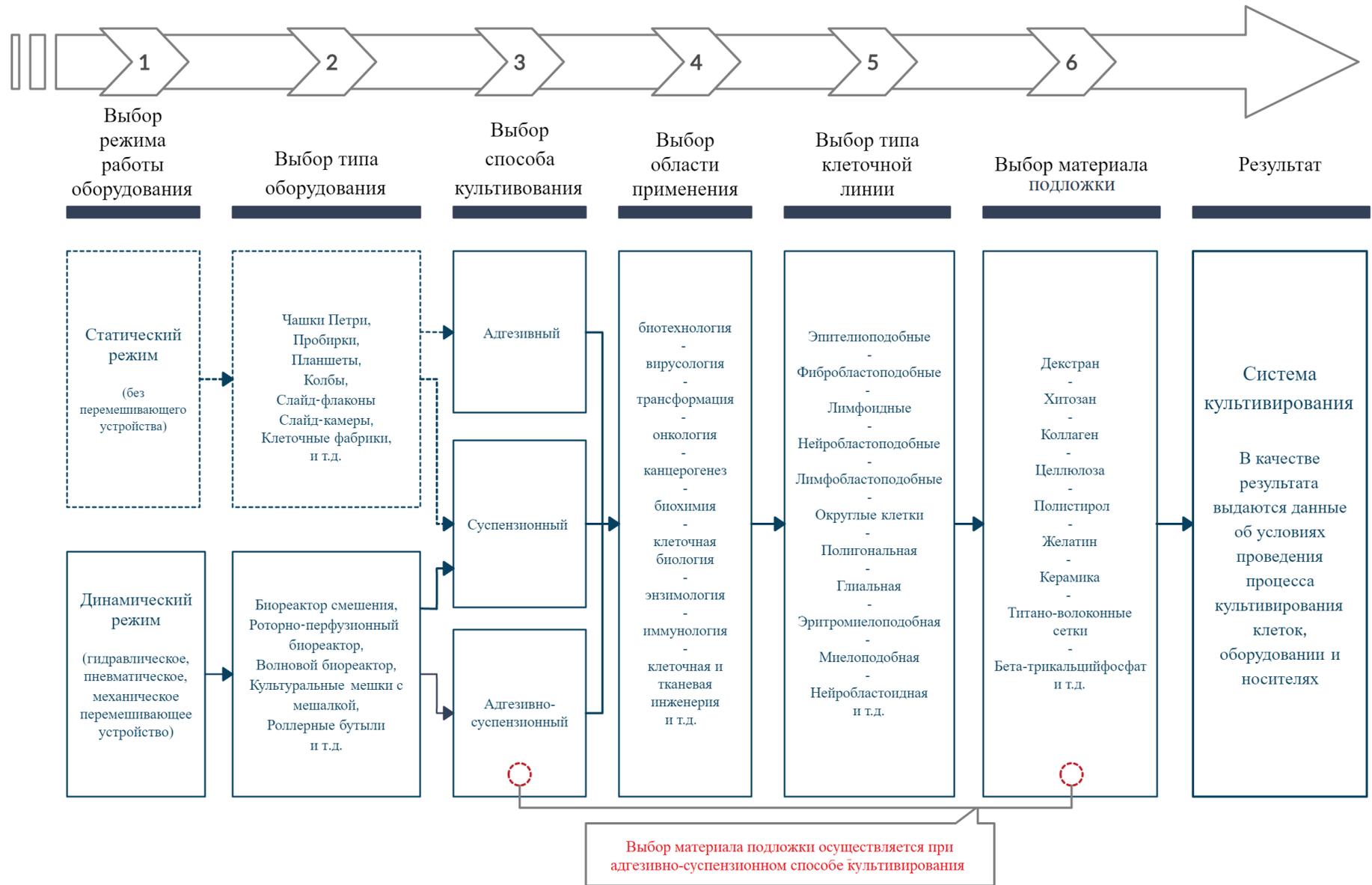


Рисунок 3.27 – Алгоритм подбора условий проведения процесса культивирования клеток млекопитающих

При наличии исходных данных, таких как оборудование и тип клетки млекопитающего, происходит пошаговый опрос системы. На рисунке 3.28 представлен вопрос шага №1: «Выберите режим работы оборудования». Разделяют два режима работы оборудования: статический и динамический. В зависимости от необходимого типа аппарата пользователь самостоятельно выбирает нужный параметр. На каждом шаге пользователь может получить информационную справку – описание.

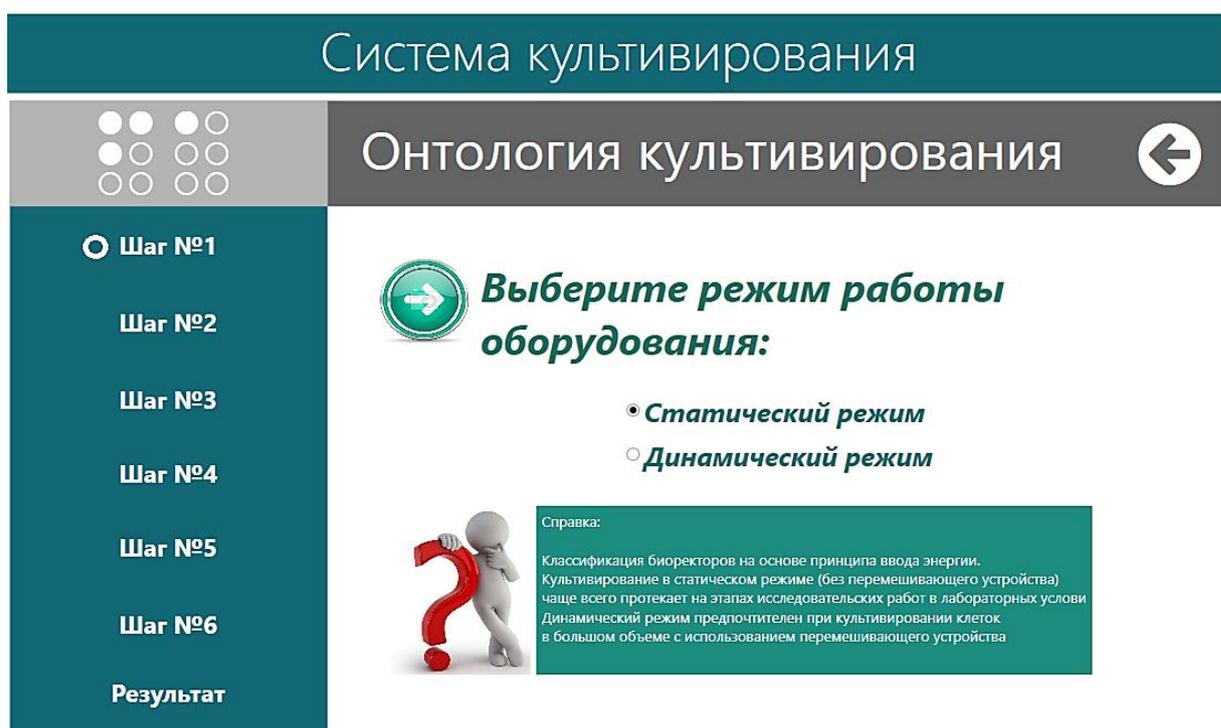


Рисунок 3.28 – Модуль подбора системы культивирования – шаг №1

На следующем шаге №2 (рисунок 3.29) система предлагает выбрать тип биореактора. С помощью выпадающего списка пользователь легко и безошибочно может найти интересующий его аппарат, содержащийся в БД.

Шаг №3 (рисунок 3.30) содержит вопрос о способе культивирования клетки: суспензионный, адгезивный или смешанный – адгезивно-суспензионный.

Следующий вопрос об области применения клеток задается на шаге №4 (рисунок 3.31). Рассмотрены такие области, как: тканевая и генная инженерия, биотехнология, вирусология, канцерогенез, клеточная биология и т.д.

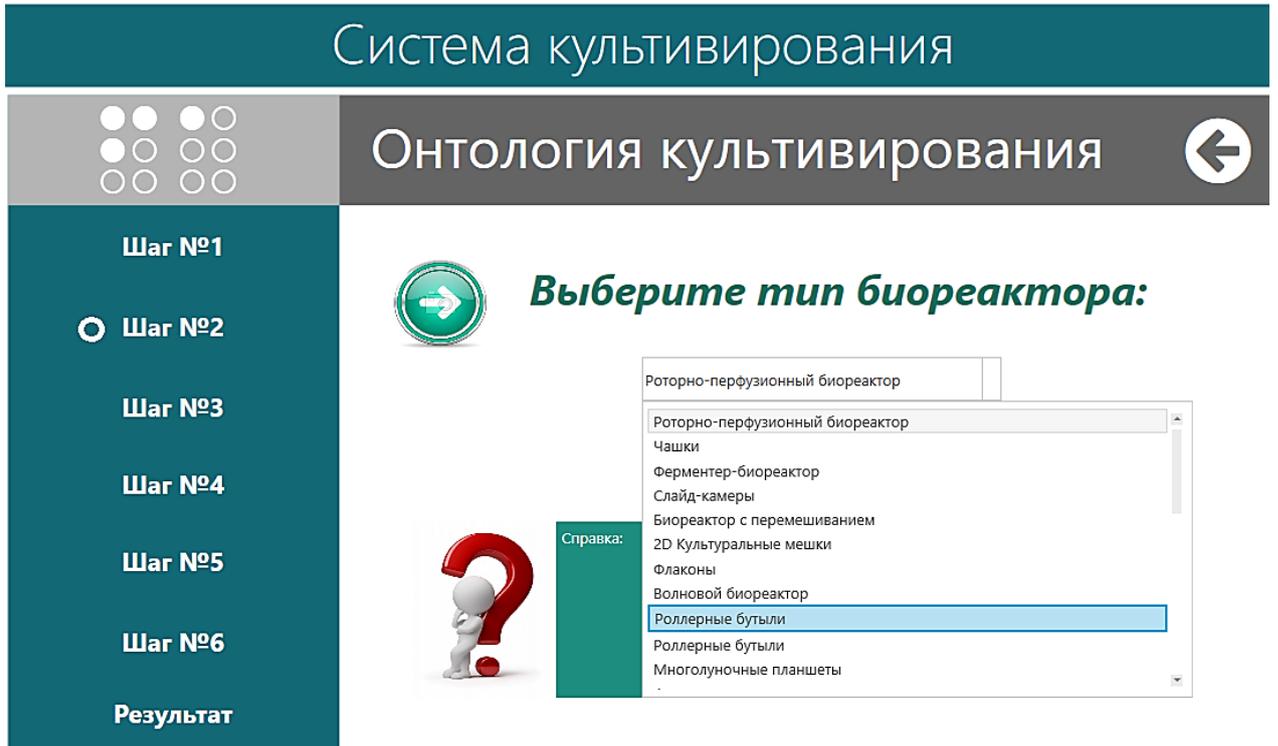


Рисунок 3.29 – Модуль подбора системы культивирования – шаг №2

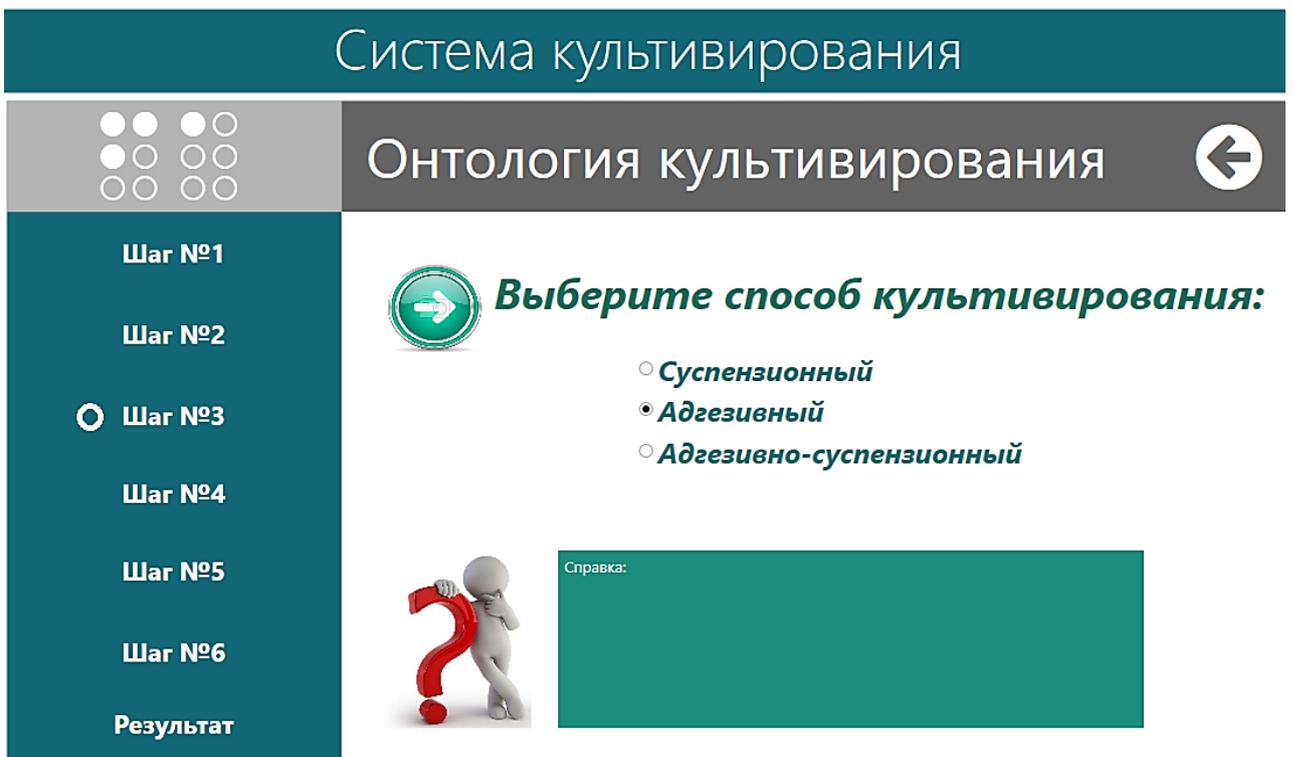


Рисунок 3.30 – Модуль подбора системы культивирования – шаг №3

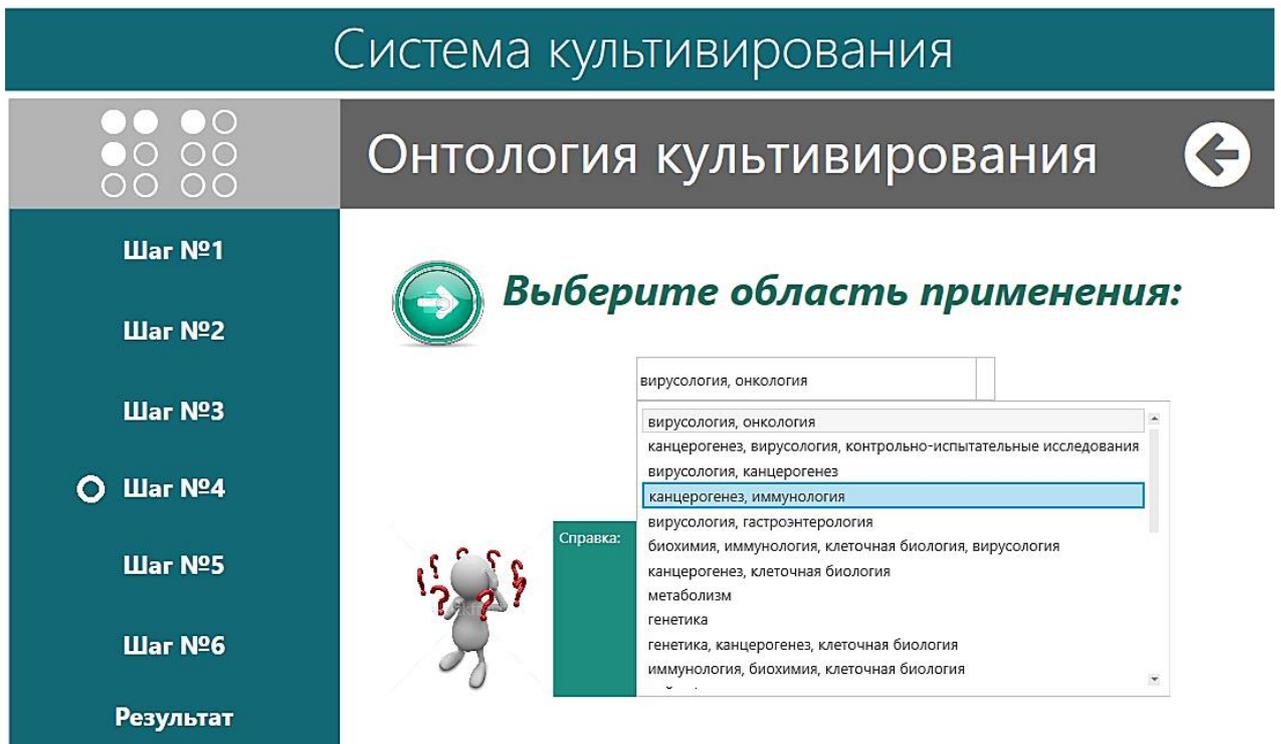


Рисунок 3.31 – Модуль подбора системы культивирования – шаг №4

Выбор типа клеточной линии осуществляется на шаге №5 (рисунок 3.32). Представлены различные типы: эпителиоподобные, фибробластоподобные, лимфобластоподобные, округлые клетки, глиальные и т.д.

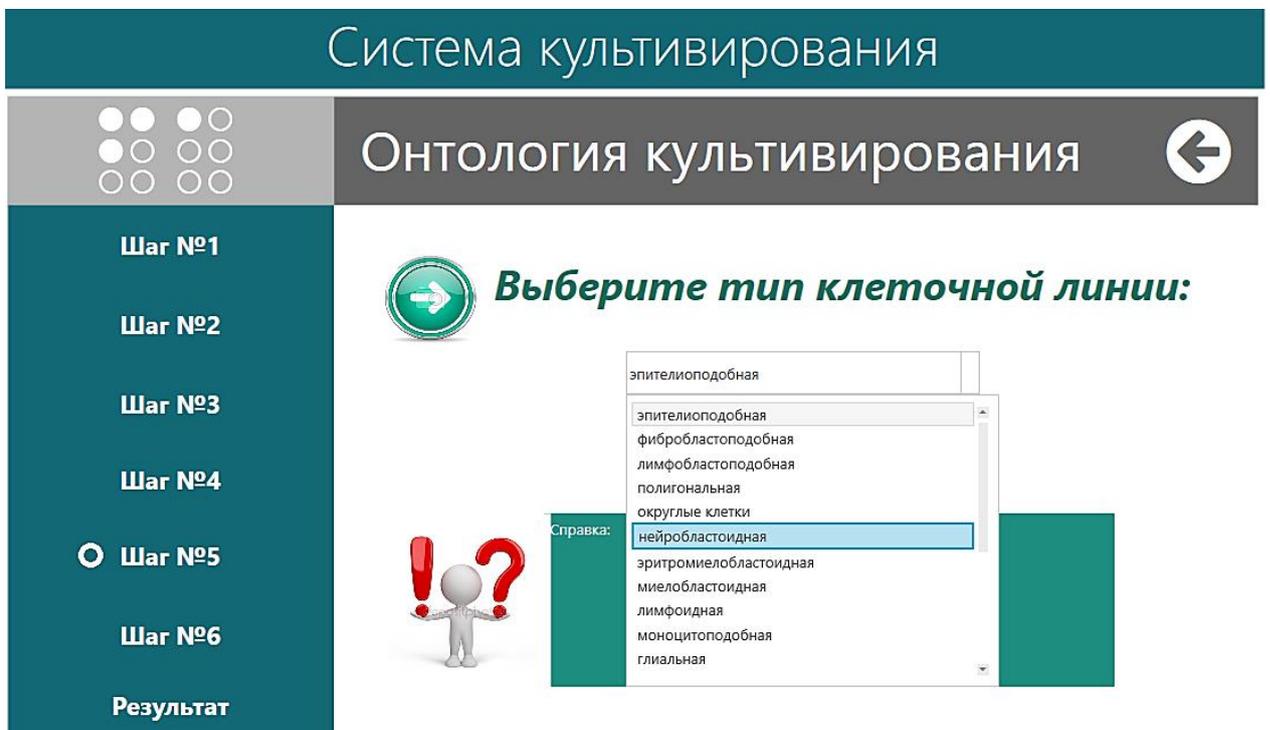


Рисунок 3.32 – Модуль подбора системы культивирования – шаг №5

На рисунке 3.33 осуществляется подбор материала подложки, а на рисунке 3.34 представлен результат подбора системы культивирования.

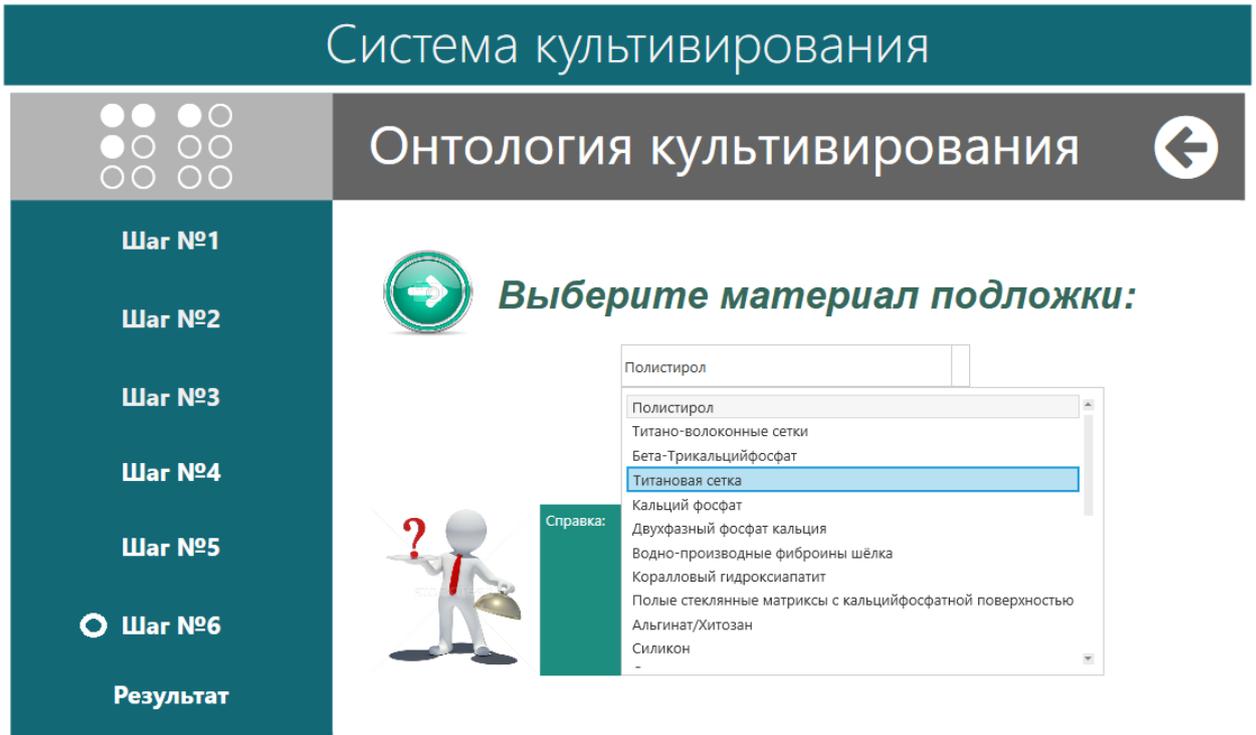


Рисунок 3.33 – Модуль подбора системы культивирования – шаг №6

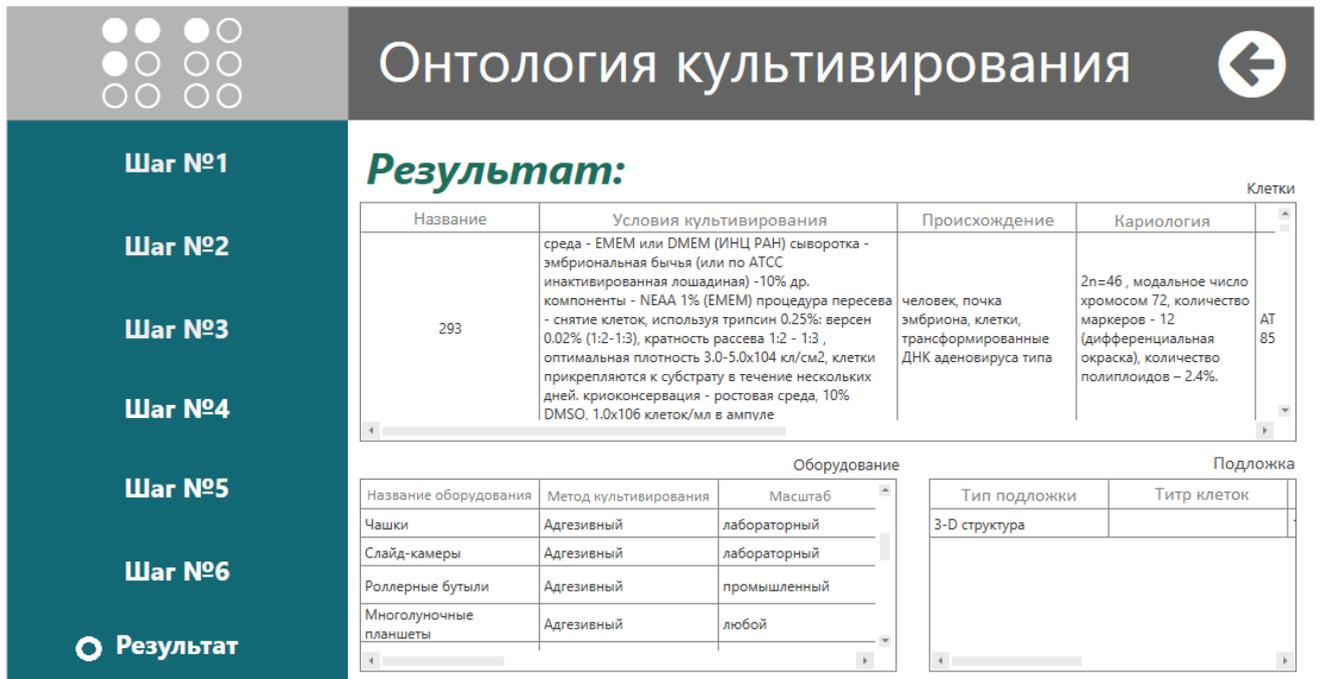


Рисунок 3.34 – Модуль подбора системы культивирования – Результат подбора

Логические вопросы, содержащиеся в данном алгоритме, подобраны таким образом, что, переходя к новому шагу, система отсортировывает данные из БД, в результате которого пользователь получает достоверную информацию о процессе

культивирования клетки. Если в итоговом результате нет данных о проведении процесса, это означает, что по таким параметрам культивирование клеток невозможно и пользователю необходимо изменить параметры поиска.

### **3.4 Разработка клиент-серверной информационной системы для поиска информации о пробиотиках и активности пребиотиков**

Для удобства работы с разработанной базой данной (раздел 3.2) было принято решение о создании веб-приложения, которое позволит пользователю, открывшему веб-страницу, ознакомиться с информацией о пребиотиках и их активности, выполнить сортировку по виду и роду пробиотика, названию пробиотика и по другим полям.

Процедура создания веб-приложения, которое подключается к серверу базы данных, состоит из клиентской и серверной частей. Клиентская часть реализует пользовательский интерфейс, а серверная получает и обрабатывает запросы от клиента, выполняет вычисления, формирует веб-страницу и отправляет ее клиенту согласно протоколу HTTP. Для серверной части использовался язык программирования Python и фреймворк Django. Для клиентской части – HTML+CSS+JavaScript, также библиотека Vue.js.

Доступ к веб-приложению осуществляется через браузер (например, Internet Explorer, Edge, Safari, Firefox или Chrome). В браузере можно открыть веб-страницу, указав в адресной строке URL-адрес: <https://rs-pharmcenter.com/rnf2019/db2/index.html?page=1>. На рисунке 3.35 представлена главная страница веб-приложения. В левой части главной страницы веб-приложения располагаются параметры поиска. Данные параметры могут выбираться как по отдельности, так и совместно, в зависимости от поставленной задачи.

Клиентское приложение для работы с базой данных о пребиотиках и их активности имеет следующие параметры поиска: род пробиотика, вид пробиотика, название пребиотика, компания, производящая пребиотик, автор статьи, метод ферментации.

Информационная система  
"Исследования эффективности пребиотиков"

Результаты: 212

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Род пребиотика	Данные о пребиотиках Вещество: Фруктоолигосахариды; Источник: Цикорий; Коммерческий продукт (да/нет): Да; Коммерческое название: RAFTILOSE® P95; Компания: Orati; Страна: Бельгия	Данные о пребиотиках Вещество: Целлюлоза; Источник: Агава; Коммерческий продукт (да/нет): Да; Коммерческое название: Sigma-Aldrich; Компания: Sigma; Страна: Англия
Вид пребиотика	Характеристики пребиотика Род: Бифидобактерии-лактобактерии; Штамм: фекальный; Группа (пробиотик / не пробиотик / патоген): пробиотик	Характеристики пребиотика Род: Бифидобактерии-лактобактерии; Штамм: фекальный; Группа (пробиотик / не пробиотик / патоген): пробиотик
Название пребиотика	Тип культуры Смешанный	Тип культуры фекальный
Компания, производящая пребиотик	Состав среды Хемин-цестеин-витамин К (Рукрофт и др., 2001)	Состав среды Хемин-цестеин-витамин К (Рукрофт и др., 2001)
Автор статьи	Условия ферментации Температура: 37 С, Продолжительность: 10 ч	Условия ферментации Температура: 37 С, Продолжительность: 24 ч
Метод ферментации	Метод ферментации Статический	Метод ферментации Статический
Поиск	Значение пребиотической активности Финальное значение log(KOE/ml) или дельта (log(KOE/ml)): 2,31	Значение пребиотической активности Финальное значение log(KOE/ml) или дельта (log(KOE/ml)): 7,84
	Разработка количественного инструмента для компрессии пребиотического эффекта пищевых олигосахаридов // Letters in Applied Microbiology // 2003 Пандраван Р.Дж.; Гибсон Г.Р.; Рочестер Р.А.	Оценка in vitro ферментативных свойств и потенциальной пребиотической активности фруктовых агавы // Journal of Applied Microbiology // 2009 Гибсон Г.Р.; Гонес Е.; Туши К.М.; Клингер А.

Рисунок 3.35 – Главная страница веб-приложения  
«Исследования эффективности пребиотиков»

На рисунках 3.36-3.38 представлены примеры запросов поиска по различным параметрам.

Информационная система  
"Исследования эффективности пребиотиков"

Результаты: 64

1 2 3

Род пребиотика	Данные о пребиотиках Вещество: Фруктоолигосахариды; Источник: Цикорий; Коммерческий продукт (да/нет): Да; Коммерческое название: RAFTILOSE® P95; Компания: Orati; Страна: Бельгия	Данные о пребиотиках Вещество: Фруктоолигосахариды; Источник: Тростниковый сахар; Коммерческий продукт (да/нет): да; Коммерческое название: Nutra Flora P95; Компания: Golden; Страна: США
Вид пребиотика	Характеристики пребиотика Род: Бифидобактерии-лактобактерии; Штамм: фекальный; Группа (пробиотик / не пробиотик / патоген): пробиотик	Характеристики пребиотика Род: Бифидобактерии; Вид: adolescents; Штамм: ATCC 15706 Группа (пробиотик / не пробиотик / патоген): пробиотик
Название пребиотика Фруктоолигосахариды	Тип культуры Смешанный	Тип культуры Чистый
Компания, производящая пребиотик	Состав среды Хемин-цестеин-витамин К (Рукрофт и др., 2001)	Состав среды MRS
Автор статьи	Условия ферментации Температура: 37 С, Продолжительность: 10 ч	Условия ферментации Температура: 37 С, Продолжительность: 10 ч
Метод ферментации	Метод ферментации Статический	Метод ферментации Статический
Поиск	Значение пребиотической активности Финальное значение log(KOE/ml) или дельта (log(KOE/ml)): 2,31	Значение пребиотической активности Финальное значение log(KOE/ml) или дельта (log(KOE/ml)): 7,84
	Разработка количественного инструмента для компрессии пребиотического эффекта пищевых олигосахаридов // Letters in Applied Microbiology // 2003 Пандраван Р.Дж.; Гибсон Г.Р.; Рочестер Р.А.	Оценка in vitro ферментативных свойств и потенциальной пребиотической активности фруктовых агавы // Journal of Applied Microbiology // 2009 Гибсон Г.Р.; Гонес Е.; Туши К.М.; Клингер А.

Рисунок 3.36 – Пример поиска по параметру «Название пребиотика»: в качестве пребиотического вещества был выбран Фруктоолигосахарид (ФОС), найдено 64 записи с ФОС

Информационная система  
"Исследования эффективности пребиотиков"

Результаты: 157

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Род пребиотика	Данные о пребиотиках	Данные о пребиотиках
Вид пребиотика	Вещество: Фруктоолигосахариды; Источник: Цикорий; Коммерческий продукт (да/нет): Да; Коммерческое название: RAFTILOSE® P95; Компания: Orati; Страна: Бельгия	Вещество: Целлюлоза; Источник: Агава; Коммерческий продукт (да/нет): Да; Коммерческое название: Sigma-Aldrich; Компания: Sigma; Страна: Англия
Название пребиотика	Характеристики пребиотика	Характеристики пребиотика
Компания, производящая пребиотик	Род: Бифидобактерии+лактобактерии; Штамм: фекальный; Группа (пробиотик / не пробиотик / патоген): пробиотик	Род: Бифидобактерии+лактобактерии; Штамм: фекальный; Группа (пробиотик / не пробиотик / патоген): пробиотик
Автор статьи	Тип культуры	Тип культуры
Метод ферментации	Смешанный	Фекальный
Поиск	Состав среды	Состав среды
	Хемин-цестеин-витамин К (Рукрофт и др., 2001)	Хемин-цестеин-витамин К (Рукрофт и др., 2001)
	Условия ферментации	Условия ферментации
	Температура: 37 С, Продолжительность: 10 ч	Температура: 37 С, Продолжительность: 24 ч
	Метод ферментации	Метод ферментации
	Статический	Статический
	Значение пребиотической активности	Значение пребиотической активности
	Финальное значение log(KOE/мл) или дельта (log(KOE/мл)): 2,31	Финальное значение log(KOE/мл) или дельта (log(KOE/мл)): 7,84
	Разработка количественного инструмента для компрессии пребиотического эффекта пищевых олигосахаридов // Letters in Applied Microbiology // 2003 Папранан Р.Дж.; Гибсон Г.Р.; Рокстон Р.А.	Оценка in vitro ферментативных свойств и потенциальной пребиотической активности фруктовых агавы // Journal of Applied Microbiology // 2009 Гибсон Г.Р.; Гомес Е.; Туши К.М.; Клинчер А.

Рисунок 3.37 – Пример поиска по параметру «Метод ферментации», найдено 157 записей

Информационная система  
"Исследования эффективности пребиотиков"

Результаты: 212

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Род пребиотика	Данные о пребиотиках	Данные о пребиотиках
Вид пребиотика	Вещество: Фруктоолигосахариды; Источник: Цикорий; Коммерческий продукт (да/нет): Да; Коммерческое название: RAFTILOSE® P95; Компания: Orati; Страна: Бельгия	Вещество: Целлюлоза; Источник: Агава; Коммерческий продукт (да/нет): Да; Коммерческое название: Sigma-Aldrich; Компания: Sigma; Страна: Англия
Название пребиотика	Характеристики пребиотика	Характеристики пребиотика
Компания, производящая пребиотик	Род: Бифидобактерии+лактобактерии; Штамм: фекальный; Группа (пробиотик / не пробиотик / патоген): пробиотик	Род: Бифидобактерии+лактобактерии; Штамм: фекальный; Группа (пробиотик / не пробиотик / патоген): пробиотик
Автор статьи	Тип культуры	Тип культуры
Метод ферментации	Смешанный	Фекальный
Поиск	Состав среды	Состав среды
	Хемин-цестеин-витамин К (Рукрофт и др., 2001)	Хемин-цестеин-витамин К (Рукрофт и др., 2001)
	Условия ферментации	Условия ферментации
	Температура: 37 С, Продолжительность: 10 ч	Температура: 37 С, Продолжительность: 24 ч
	Метод ферментации	Метод ферментации
	Статический	Статический
	Значение пребиотической активности	Значение пребиотической активности
	Финальное значение log(KOE/мл) или дельта (log(KOE/мл)): 2,31	Финальное значение log(KOE/мл) или дельта (log(KOE/мл)): 7,84
	Разработка количественного инструмента для компрессии пребиотического эффекта пищевых олигосахаридов // Letters in Applied Microbiology // 2003 Папранан Р.Дж.; Гибсон Г.Р.; Рокстон Р.А.	Оценка in vitro ферментативных свойств и потенциальной пребиотической активности фруктовых агавы // Journal of Applied Microbiology // 2009 Гибсон Г.Р.; Гомес Е.; Туши К.М.; Клинчер А.

Рисунок 3.38 – Пример поиска по параметру «Автор статьи»: Гибсон Г. Р., найдено 212 записей

На рисунке 3.39 представлен результат поиска по совмещенным параметрам.

Запрос поиска:

- род пребиотика: Бифидобактерии+Лактобактерии+Эубактерии;
- автор статьи: Чайонгхарн А.;
- метод ферментации: статический.

Результат поиска с данными параметрами составил: 6 пробиотиков.

Информационная система  
"Исследования эффективности пробиотиков"

Результаты: 6

Род пробиотика: Бифидобактерии+Лактобактерии+Эубактерии

Вид пробиотика: [ ]

Название пробиотика: [ ]

Компания, производящая пробиотик: [ ]

Автор статьи: Чайонгхарн А.

Метод ферментации: Статический

Поиск

Данные о пробиотиках	Данные о пробиотиках
Вещество: Pleurotus abalonus; Коммерческий продукт (да/нет): да; Страна: Таиланд	Вещество: Pleurotus sajon-saji; Коммерческий продукт (да/нет): да; Страна: Таиланд
Характеристики пробиотика Род: Бифидобактерии+Лактобактерии+Эубактерии; Штамм: фекальный; Группа (пробиотик / не пробиотик / патоген): пробиотик	Характеристики пробиотика Род: Бифидобактерии+Лактобактерии+Эубактерии; Штамм: фекальный; Группа (пробиотик / не пробиотик / патоген): пробиотик
Тип культуры фекальный	Тип культуры фекальный
Состав среды Хемин-цестрин-витамин К (Рукрофт и др., 2001)	Состав среды Хемин-цестрин-витамин К (Рукрофт и др., 2001)
Условия ферментации Температура: 37 С, Продолжительность: 10 ч	Условия ферментации Температура: 37 С, Продолжительность: 24 ч
Метод ферментации Статический	Метод ферментации Статический
Значение пробиотической активности Метод пробиотической оценки: PI, Значение индекса: 1,4	Значение пробиотической активности Метод пробиотической оценки: PI, Значение индекса: 1,9
Разработка количественного инструмента для компрессии пробиотического эффекта пищевых олигосахаридов J. J. Lett. in Applied Microbiology // 2003 Пандранан Р.Дж.; Гибсон Г.Р.; Ростов Р.А.; Чайонгхарн А.	Оценка in vitro ферментативных свойств и потенциальной пробиотической активности фруктов агавы J. Journal of Applied Microbiology // 2009 Чайонгхарн А. Гибсон Г.Р.; Томас Е.; Тучи К.М.; Клингер А.

Рисунок 3.39 – Результат совместного поиска по трем параметрам: род пробиотика – «Бифидобактерии+Лактобактерии+Эубактерии»; автор статьи – «Чайонгхарн А.»; метод ферментации – «статический»

Таким образом, с помощью веб-приложения пользователь может получить общую информацию по конкретному направлению и приоритету в области культивирования пробиотических штаммов в присутствии пробиотических веществ. Удобство системы состоит в том, что пользователю не нужно обращаться в различные источники для получения информации, она уже собрана и структурирована по тематике.

Стоит отметить, что одним из главных преимуществ использования веб-приложения является тот факт, что пользователь не зависит от конкретной операционной системы, так как веб-приложения являются кроссплатформенными сервисами.

## Глава 4. Аналитическая часть информационно-аналитического комплекса

### 4.1 Аналитический блок по прогнозированию кинетики роста клеток млекопитающих на микроносителе

#### 4.1.1 Математическое моделирование процесса роста культуры клеток млекопитающих на немеле с использованием клеточно-автоматного подхода

Рост адгезивных клеточных культур возможен только в прикрепленном к поверхности состоянии, поэтому в качестве подложки для выращивания клеток используют микроносители различных типов и геометрии. Вне зависимости от геометрической пространственной формы микроносителя, клетки заполняют собой предоставляемую им поверхность до образования монослоя. С геометрической точки зрения процесс роста клеток на поверхности микроносителя может быть рассмотрен исключительно в рамках площади, предоставляемой для процессов их жизнедеятельности, двумерной поверхности.

Цикл клеточного роста адгезивных типов клеток заключается в следующих основных этапах (рисунок 4.1):

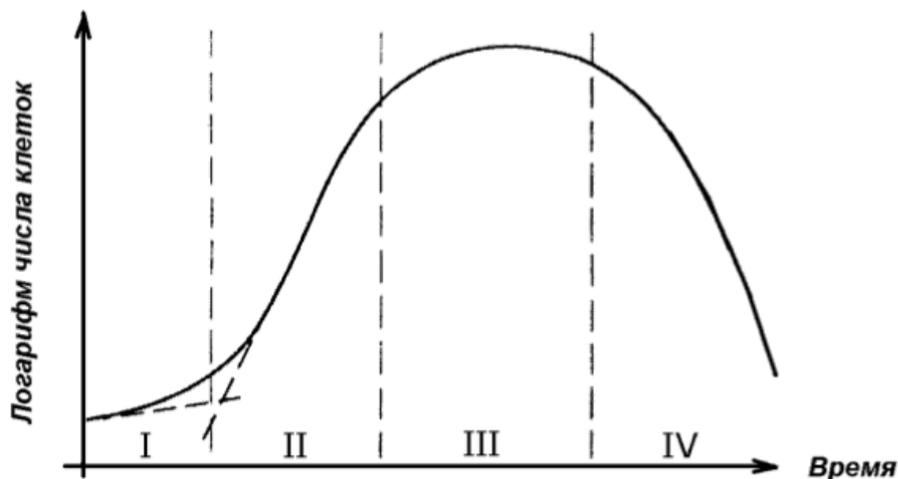


Рисунок 4.1 – Фазы роста адгезивных типов клеток:

I – лаг-фаза; II – фаза экспоненциального роста; III – стационарная фаза; IV – фаза гибели клеток

- Лаг-фаза – это первоначальный период роста клеток сразу после их посева. Данный период характеризуется отсутствием процесса пролиферации,

может длиться от нескольких до 48 часов, за это время клетки прикрепляются к поверхности микроносителя и повторно входят в клеточный цикл.

- Период экспоненциального роста, который завершается достижением монослоя на поверхности микроносителя. В начале данного этапа клеточная культура проходит через период полного удвоения первичного посева клеток – времени, когда численность клеток возрастает в 2 раза относительно числа их первичного посева. Причем процесс деления клеток на данном этапе характеризуется своей периодичностью. Растущие клетки регулярно делятся примерно один раз в каждые 24 часа.

- Стационарная фаза – период покоя клеточной культуры, который обусловлен отсутствием вакантных мест на поверхности микроносителя для дальнейшего деления культуры. Также на данном этапе имеет место эффект *контактного ингибирования* – замедление пролиферации клеток в виду наличия в их окружении соседних клеток. В зависимости от свойств и особенностей каждой клеточной культуры и выбранного способа культивирования продолжительность данной фазы может варьироваться от нескольких часов до нескольких суток. Также на данном этапе одним из лимитирующих факторов может выступать эффект достижения предела делимости клеточной линии – *предел Хейфлика*. В технологии культивирования клеток используется значение предела делимости. Данное значение эмпирически было получено при культивировании первичных клеточных культур – они способны делиться в среднем не более 52 раз.

- Фаза гибели клеток – период, при котором клетки ввиду недостатка питательных веществ и по причине тесного контактирования с соседними клетками подвергаются гибели.

Обычно после короткого периода экспоненциального роста тот или иной фактор становится лимитирующим. Это происходит в результате истощения какого-либо фактора среды или в результате того, что культивируемые клетки полностью покрывают поверхность, на которой растут. Скорость роста замедляется и количество клеток в культуре достигает насыщения (конечная плотность клеток). Когда дальнейшее деление клеток прекращается, наступает

стационарная фаза роста культуры. При устранении лимитирующего фактора клеточный цикл возобновляется.

На основании физических свойств процесса можно сделать следующие основные выводы, которые являются основополагающими при составлении математического описания процесса культивирования клеточно-автоматной моделью:

- рост адгезивного типа клеток с геометрической точки зрения может быть описан в виде двумерной системы по причине роста клеток исключительно в виде монослоя;
- основными этапами роста клеток являются: лаг-фаза, фаза экспоненциального роста, стационарная фаза и фаза гибели клеток, продолжительность которых зависит от особенностей и свойств каждой клеточной культуры;
- переход процесса от одной фазы к другой обуславливается достижением периода полного удвоения первичного посева клеток и достижением времени стационарной фазы, которая предшествует времени гибели клеток;
- поведение клеток на рассматриваемой поверхности зависит от их распределения по поверхности микроносителя, от наличия соседних клеток, а также от индивидуальных особенностей отдельно взятой системы клетки (эффект контактного ингибирования, достижение стационарной фазы, предел Хейфлика).

Рассмотрим поведение изучаемого процесса роста мезенхимальных стромальных клеток – Madin Darby Canine Kidney, MDCK (ECACC-No. 84121903, Salisbury, U.K) на поверхности декстранового микроносителя Cytodex 1 (GE Healthcare, Upsalla, Sweden) в рамках поверхности одного микроносителя. Для этого необходимо провести перерасчет количества клеток из всей изучаемой системы на поверхность одного микроносителя. Примем допущения, что с геометрической точки зрения микроноситель представляет собой шар, а клетка на поверхности микроносителя занимает часть площади в виде круга.

Диаметр одного микроносителя соответствует 180 мкм. Тогда по формуле площади поверхности шара получаем:

$$S_{\text{пов мкрн-ля}} = \pi d_{\text{мкрн-ля}}^2 \quad (4.1)$$

$$S_{\text{пов мкрн-ля}} = 101\,736 \text{ мкм}^2$$

Линейный размер одной клетки составляет 13-15 мкм. Тогда по формуле площади поверхности круга имеем:

$$S_{\text{клетки}} = \frac{\pi d_{\text{клетки}}^2}{4} \quad (4.2)$$

$$S_{\text{клетки}} = 153,86 \text{ мкм}^2$$

Поскольку рост клеток MDCK протекает исключительно до достижения монослоя на поверхности микроносителя, рассчитаем емкость популяции – предельно допустимое количество клеток на поверхности одного микроносителя:

$$n_{\text{клеток}} = \frac{S_{\text{пов мкрн-ля}}}{S_{\text{клетки}}} \quad (4.3)$$

$$n_{\text{клеток}} \cong 661$$

Концентрация микроносителей в системе составляла 1,77 г/л. Первоначальный посев клеток составил  $2 \cdot 10^5$  клеток/мл на 5 литров первоначального объема системы [150]. Первоначальный посев клеток в разрезе 1 микроносителя составил  $\cong 6$  штук. Данное значение подтверждается в патенте «Способ культивирования адгезионных клеток» [151].

Перерасчет всех данных кинетики роста клеток на поверхности одного микроносителя приведены в таблице 4.1.

На основании рассчитанной кинетики роста клеток на поверхности одного микроносителя можно сделать вывод о соответствии динамики роста клеток MDCK вышеописанным этапам, что позволяет описать процесс при помощи клеточно-автоматной модели.

Основным принципом математического описания процессов посредством клеточных автоматов является представление поведения динамических систем в виде взаимодействия и изменения свойств, соединенных между собой простейших элементов, т. е. рассматриваемая динамическая система представляется в виде конечного набора элементов, так называемой решетки клеточного автомата, каждый элемент которой характеризуется набором состояний.

Кинетика роста клеток MDCK на поверхности одного микроносителя Cytodex 1

Время, ч	Количество клеток на поверхности 1 микроносителя, шт.
0	6
24	19
48	62
72	169
96	348
120	510
144	591
168	621
192	630
216	632
240	633
264	633

Смена состояний ячеек осуществляется по заданным правилам локального перехода, причем они, как правило, определяются параметрами и состояниями соседних элементов решетки – окрестностью ячейки. Согласно приведенному жизненному циклу клеточной культуры основные ее этапы заключаются в следующем:

1. Период лаг-фазы, который характеризуется отсутствием деления клеток;
2. Начало фазы экспоненциального роста клеток, который начинается при достижении периода полного удвоения первичного посева клеток;
3. Протекание фазы роста при условии наличия вакантных мест на поверхности микроносителя и возможности деления ввиду достижения предела делимости (предел Хейфлика);
4. Достижение стационарной фазы, завершение которой характеризуется достижением времени гибели клеток;
5. Дальнейший спад численности клеток при отсутствии внешних факторов воздействия на систему.

Иными словами, процесс роста клеток на поверхности одного микроносителя может быть описан при помощи клеточно-автоматной модели при введении следующих допущений:

1. Система представляет собой совокупность одинаковых по размеру ячеек – рост клеток протекает до достижения монослоя на поверхности микроносителя, клетки культуры равны по размеру между собой;

2. Площадь одной ячейки клеточного автомата соответствует площади одной клетки культуры на поверхности микроносителя, однако предусмотрен вариант, что площадь клетки может быть больше площади одной ячейки п.4;

3. В зависимости от геометрии микроносителя рассматриваются закрытые или открытые границы клеточного автомата;

4. Каждая ячейка может иметь четыре (окрестность фон Неймана) или восемь соседних ячеек (окрестность Мура):

– четыре соседние ячейки (влево/вправо, вверх/вниз) – если площадь одной клетки превышает площадь одной ячейки, то рост соседних клеток ингибирует рост клетки в центре за счет нехватки питательных веществ;

– восемь соседних ячеек от материнской клетки – при условии, что клетка занимает исключительно 1 ячейку и отсутствует ингибирование текущей клетки из-за недостатка питательных веществ.

5. Для учета геометрии клетки введена диагональная вероятность роста клеточной культуры:  $P_k = 1, P_d \leq 1$  (рисунок 4.2);

6. Ячейки могут принимать два состояния: занята клеткой или свободна. Состояние, при котором ячейка занята клеткой, имеет определенные характеристики: возраст клетки и количество произведенных делений.

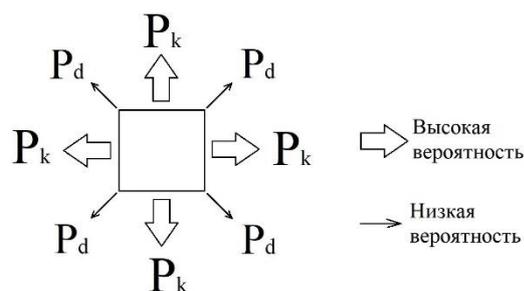


Рисунок 4.2 – Вероятность направления роста адгезивных типов клеток

На рисунке 4.3 представлено схематичное изображение клеточного автомата и характеристик ячейки.

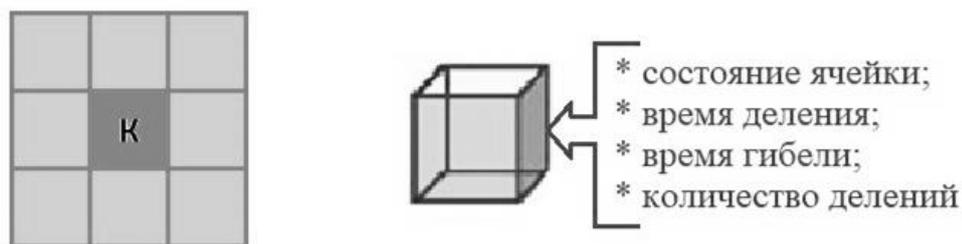


Рисунок 4.3 – Схематичное изображение клеточного автомата и характеристик ячейки

На основании особенностей жизненного цикла культуры и принятых допущений разработанная клеточно-автоматная модель характеризуется следующими правилами перехода и сменой локальных состояний ячеек:

1. Количество ячеек клеточного автомата соответствует предельному количеству клеток на поверхности микроносителя.

2. Процесс первоначального посева клеток, с точки зрения модели, соответствует изменению характеристики ячеек – *состояние* – со свободной на занятую.

3. После процесса первоначального посева клетки находятся в состоянии лаг-фазы до достижения периода удвоения первичного посева клеток. С точки зрения модели это описывается достижением характеристики ячейки – *время деления клеток* – заданному значению периода удвоения.

4. При достижении периода удвоения наступает фаза экспоненциального роста клеток – клетки осуществляют деление при наличии свободного места в ее окрестности и при возможности ее деления согласно условию достижения предела Хейфлика (анализ соседних ячеек из окрестности, достижение характеристики – *количество делений клеток* – предел Хейфлика).

5. Окончанием фазы роста является замедление в росте клеток и достижение времени их гибели – достижение характеристики ячейки – *время гибели клеток* – заданное значение гибели культуры.

Разработанный алгоритм для прогнозирования кинетики роста клеток млекопитающих на поверхности микроносителя с использованием клеточно-автоматного подхода представлен на рисунке 4.4 а.

Алгоритм расчета начинается с задания начальных условий:

$N$  – размерность сетки поля;

$Q$  – количество материнских клеток (концентрация посева);

$d_{end}$  – итерация гибели клеток;

$g_0$  – итерация деления клеток.

Для работы программы вводятся соответствующие счетчики:  $d$  – счетчик гибели клеток,  $g$  – счетчик жизни клеток и  $H$  – счетчик деления клеток.

Далее осуществляется генерация структуры поля размером  $N \times N$  и помещение в него случайным образом  $Q$  материнских клеток. Расчет числа клеток, способных осуществить на данный момент времени деление, отвечающих условию  $g = g_0$ , осуществляется итеративно.

Описание одной итерации клеточного автомата представлен на рисунке 4.4 б. Как представлено на рисунке 4.4 б прежде чем клетка поделится, система проводит опрос в соответствии с условиями алгоритма. Если время жизни  $i$ -клетки кратно  $g_0$ , то означает, что клетка может поделиться. Далее осуществляется проверка условия достижения клетками предела делимости  $H$  – *предел Хейфлика* (данное значение не может превышать 52). Если клетка не достигла значения равного  $H$ , то происходит проверка наличия свободных ячеек в окрестности рассматриваемой клетки. Соответственно, при наличии вакантного места происходит переход к следующему блоку алгоритма – деление рассматриваемой клетки.

В данном блоке происходит деление клетки: в соседнюю ячейку, выбранную случайным образом, из окрестности текущей клетки помещается новая клетка. После увеличения времени жизни клетки осуществляется блок проверки условия гибели клетки. На данном этапе алгоритма происходит проверка условия достижения счетчиком  $d$  значения итерации гибели клетки  $d_{end}$ . При его выполнении происходит гибель клетки: состояние рассматриваемой ячейки и ее

счетчики обнуляются. Если значение итерации гибели клетки  $d_{end}$  не достигнуто, то осуществляется дальнейший итеративный расчет жизненного цикла клетки.

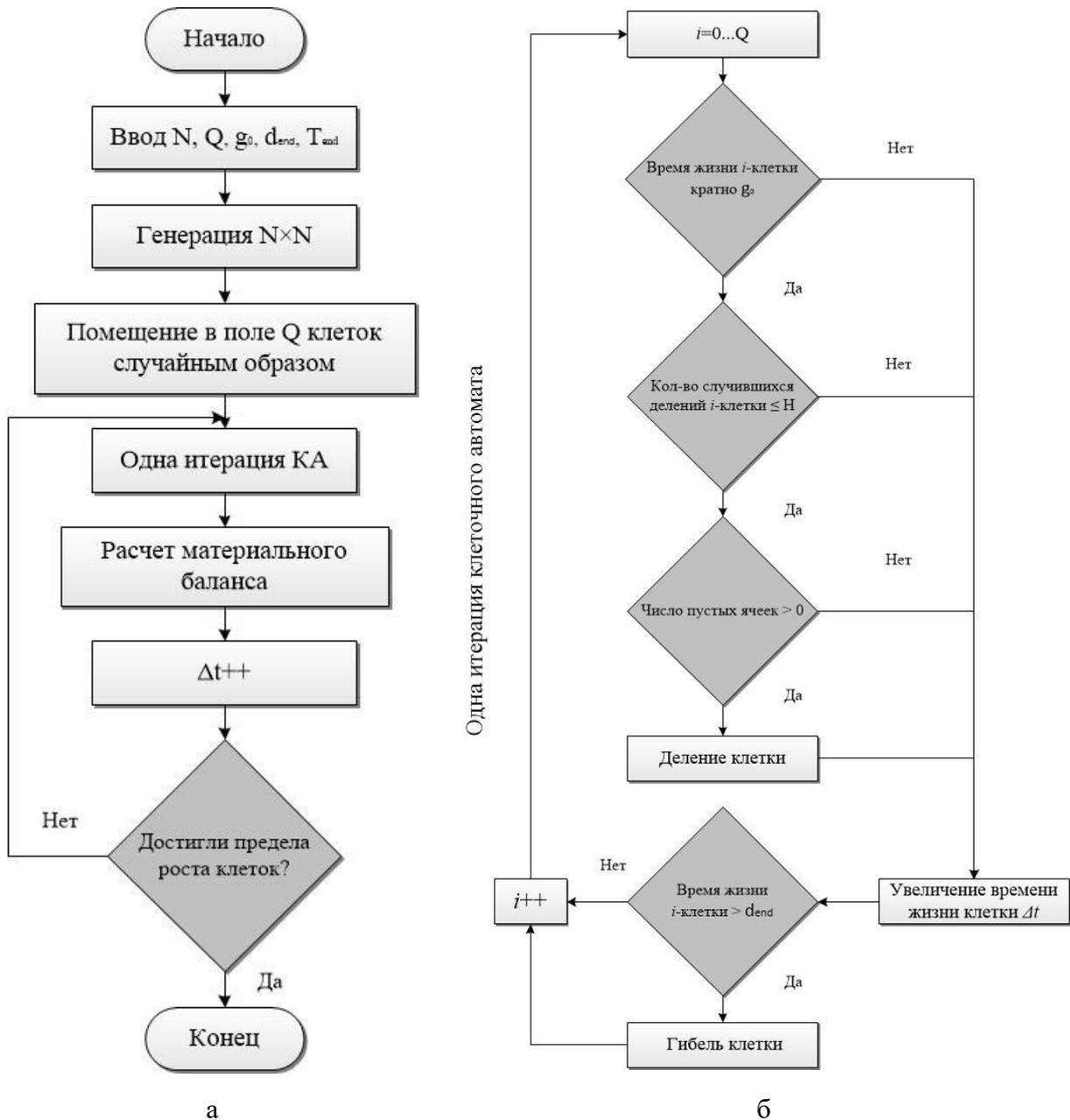


Рисунок 4.4 – Алгоритм для прогнозирования кинетики роста клеток млекопитающих на микроносителе с использованием клеточно-автоматного

подхода:

а – полный алгоритм расчета; б – описание одной итерации клеточного автомата

После каждой итерации клеточного автомата происходит вычисление материального баланса (рисунок 4.4 а), который заключается в следующем:

количество клеток на начальном этапе итерации с учетом их деления и гибели должно равняться количеству клеток на конечном этапе итерации.

Проверка выхода из программы осуществляется через блок проверки условия достижения клетками предела делимости  $N$  – *предел Хейфлика*. При его достижении осуществляется выход из программы. Если значение  $N$  не достигнуто, то расчет продолжается.

В процессе соблюдения системой правил перехода могут возникать различные состояния ячеек. Далее будут рассмотрены их возможные состояния в клеточном автомате. Слева указано начальное состояние, а справа – измененное состояние ячейки, относительно которой она рассматривается.

На рисунке 4.5 показан пример процесса деления клетки (в центральной ячейке) при выполнении соответствующих условий:

- в окрестности ячейки есть вакантные места;
- клетка рассматривается согласно условию  $g=g_0$ ;
- значение счетчика делимости клетки  $N$  не достигло значения предела Хейфлика.

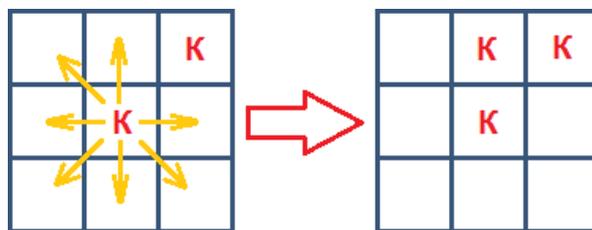


Рисунок 4.5 – Материнская клетка способна поделиться условию  $g=g_0$ , и в ее окрестности присутствуют свободные ячейки

На рисунке 4.6 показан случай, при котором клетка в центральной ячейке может поделиться, однако в ее окрестности нет вакантных мест. В системе никаких изменений не происходит. С физической точки зрения данный пример демонстрирует эффект *контактного ингибирования клеток* – процесс остановки роста культуры при физическом контактировании ее особей.

Случай, при котором клетка в центральной ячейке может поделиться и в ее окрестности есть вакантные места, однако превышен предел делимости клетки  $N$ , представлен на рисунке 4.7. В системе также не происходит никаких изменений.

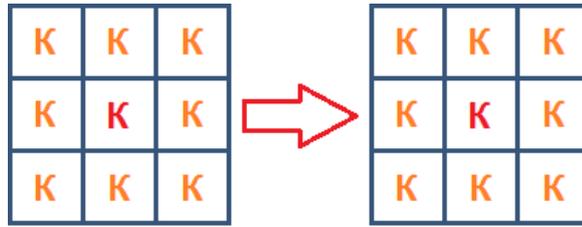


Рисунок 4.6 – Центральная клетка может поделиться согласно правилу  $g=g_0$ , но в ее окрестности нет свободных ячеек

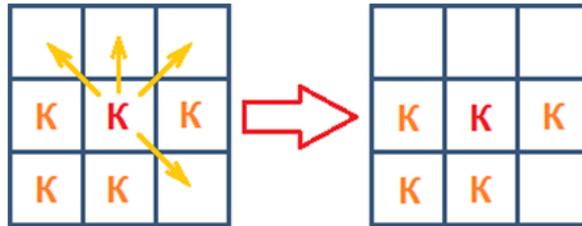


Рисунок 4.7 – Центральная клетка по счетчику итераций может поделиться, но ее предел делимости  $H > 52$

На рисунке 4.8 показан процесс гибели клетки (в центральной ячейке) при выполнении условия достижения значения ее счетчика  $d$  значения итерации гибели клетки  $d_{end}$ .

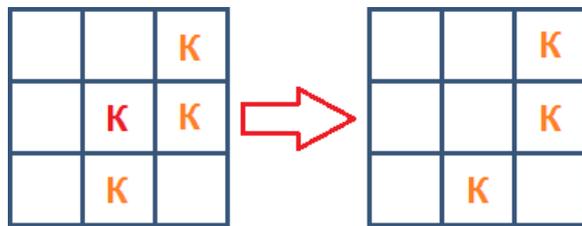


Рисунок 4.8 – Гибель (центральной) клетки при достижении условия  $d=d_{end}$

Указанные выше правила перехода и состояния клеточного автомата были реализованы в программном комплексе, описание которого приведено в следующем разделе.

#### 4.1.2 Программный модуль для расчета жизненного цикла клеточной культуры

Разработан программный комплекс для расчета жизненного цикла клеточной культуры в виде консольного приложения. В течение процесса итеративного расчета в консоли отображается график роста клеточной культуры на поверхности одного микроносителя. На рисунке 4.9 приведена визуализация работы программы.

Консольное приложение содержит параметры, такие как:

- «размер поля» – генерация структуры поля размером  $N \times N$ ;
- «% заполнения» – процент заполнения поверхности микроносителя клетками;
- «время, ч» – длительность протекания процесса роста клеточной культуры на поверхности микроносителя;
- «1 итерация, ч» – время одной итерации;
- «время жизни, ч» – время жизни клетки на поверхности микроносителя;
- «время деления, ч» – время деления клетки: материнская клетка делится на две дочерние;
- «предел деления» – достижение клетками предела делимости  $H$  – предел Хейфлика. Клетки способны делиться в среднем не более 52 раз;
- «вероятность деления, %» – вероятность того, что клетка поделилась;
- «окрестность: 4 соседа/8 соседей» – каждая ячейка может иметь четыре (окрестность фон Неймана) или восемь соседних ячеек (окрестность Мура);
- «граничные условия: открытые/закрытые» – в зависимости от геометрии микроносителя рассматриваются закрытые или открытые границы клеточного автомата.

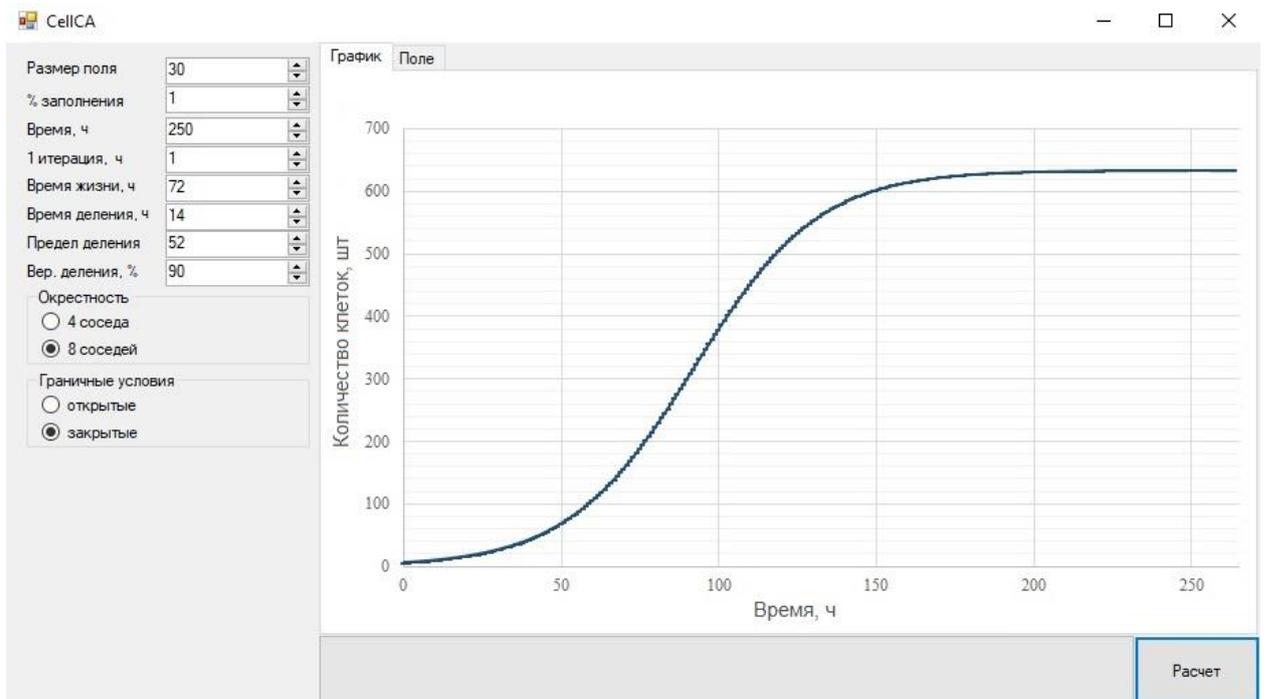


Рисунок 4.9 – Визуализация работы программного комплекса для расчета жизненного цикла клеточной культуры

Разработанный программный комплекс позволяет осуществить моделирование роста клеток млекопитающих (в частности, MDCK) на поверхности микроносителя. Данная программа позволяет установить наиболее оптимальный режим культивирования клеток путем варьирования размеров и формы геометрии микроносителя, первоначальной концентрации посева клеточных культур и концентрации микроносителей в рассматриваемой системе.

*Результаты подбора параметров модели для исследуемого процесса роста клеток MDCK на поверхности микроносителя Cytodex 1*

Входными параметрами для расчета в программе являются размерность массива, итерация гибели клеток и итерация деления клеток, а также время конечной итерации вычисления.

Исходя из расчетов предельно допустимого количества клеток на поверхности одного микроносителя:  $n_{\text{клеток}} \cong 661$ , рассмотрим массив размером  $30 \times 30$ .

Время одной итерации соответствует 1 часу времени рассматриваемого процесса соответственно расчет проводится до 250 итерации.

Время гибели клеток соответствует достижению постоянного значения на кинетической кривой роста клеток (рисунок 4.10). В рассматриваемом случае итерация гибели соответствует  $d_{\text{end}}=217$ .

Время деления клеток соответствует периоду полного удвоения первоначальной концентрации клеток на кинетической кривой роста клеток. Иными словами, итерация деления соответствует значению времени, когда все клетки первичного посева совершат деление. В рассматриваемом случае итерация деления соответствует  $g_0=14$ .

На рисунке 4.11 представлено сравнение экспериментальных и расчетных данных на примере культивирования клеток MDCK на поверхности микроносителя Cytodex 1. Для разработанной модели в случае использования сферических частиц были использованы тороидальные граничные условия.



Рисунок 4.10 – Кривая роста клеток MDCK на поверхности одного микроносителя Cytodex 1

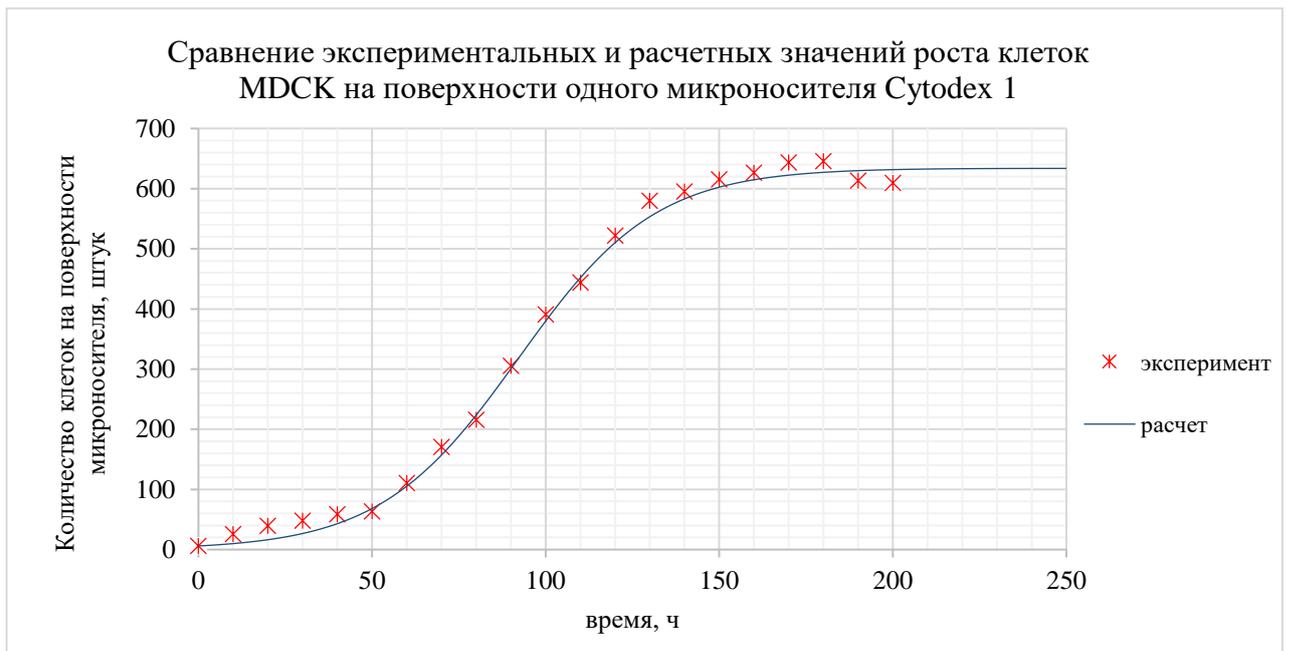


Рисунок 4.11 – Сравнение экспериментальных и расчетных значений роста клеток MDCK на поверхности одного микроносителя Cytodex 1

Для оценки точности расчета по модели использовалась средняя относительная ошибка:

$$\delta = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n \frac{|y_i^{\text{э}} - y_i^{\text{р}}|}{y_i^{\text{э}}} \cdot 100\% \quad (4.4)$$

Как видно из графика сравнения, кривая расчетных значений практически совпадает с экспериментальными значениями. Относительная ошибка составила  $\delta = 7,65\%$ .

На рисунке 4.12 представлена визуализация работы программы на выбранных промежутках времени. Как видно из рисунка, с течением времени происходит рост клеток – их деление и гибель на поверхности микроносителя. В данной визуализации используется градация от черного к синему. Черный цвет означает, что клетка только появилась на поверхности (начальный посев или деление материнской клетки), синий означает, что клетка определенное время до достижения времени гибели находится на микроносителе. Соответственно, чем клетка светлее, тем она старше.

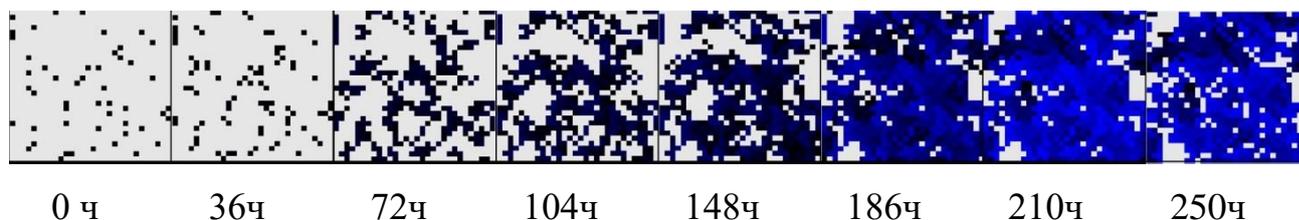


Рисунок 4.12 – Визуализация работы программы для моделирования роста клеток на поверхности микроносителя

Таким образом, на основании данных о кинетике роста клеток на поверхности микроносителя, полученных с помощью клеточно-автоматной модели, можно перейти к моделированию гидродинамики процесса культивирования клеток в суспензионном биореакторе (с микроносителями) в соответствии с иерархической схемой построения математической модели процесса.

## **4.2 Аналитический блок по моделированию процессов культивирования клеток млекопитающих в биореакторах**

### **4.2.1 Математическое моделирование гидродинамических потоков питательной среды внутри биореактора в среде Ansys Fluent**

Вычислительная гидродинамика – это один из разделов механики сплошных сред, который включает в себя численные методы решения уравнений, способных

описывать протекающие в системе гидродинамические, массо- и теплообменные процессы. Наиболее часто встречающимся подходом к описанию систем с точки зрения вычислительной гидродинамики является метод конечных объемов. Данный метод используется в коммерческом пакете программ Ansys Fluent.

Процесс построения математических моделей в рамках вычислительной гидродинамики может быть разделен на 4 основных последовательных этапа (рисунок 4.13).



Рисунок 4.13 – Основные этапы моделирования в рамках вычислительной гидродинамики

Первым этапом при формировании математической модели биореактора в рамках исследования вычислительной гидродинамики выступает процесс разработки геометрической модели. Данный этап был реализован с помощью пакета Ansys Fluent 17.0. Геометрическая модель биореактора является его непосредственной виртуальной моделью, которая полностью описывает геометрические особенности, размеры и свойства реального биореактора.

В качестве второго этапа разработки математического описания биореактора выступает процесс построения расчетной сетки на основе уже построенной на первом этапе геометрической модели. Построение сетки необходимо для формирования по всему моделируемому пространству ячеек для использования метода конечных объемов. На данном этапе также проводится оценка качества сгенерированной сетки на основе анализа геометрических характеристик элементов сетки.

При решении задач численного моделирования можно использовать различные типы расчетных сеток, но наиболее часто применяемыми являются –

гексагональная и тетраэдрическая. Главным параметром при построении расчетной сетки является плотность, поскольку от количества ячеек, на которые разбивается сетка, зависит точность расчета. Чем больше ячеек в сетке, тем меньше будет ошибка в каждой ячейке, следовательно, и общая ошибка модели. Выбор размерности сетки и ее плотности зависит от задачи моделирования и от аппаратного оформления машины, на которой осуществляется моделирование. При необходимости данный параметр корректируется путем анализа и подбора оптимальных параметров построения расчетной сетки.

В данной работе, для большей изотропности рабочей сетки, была выбрана тетраэдрическая разновидность, поскольку биореактор с перемешивающим устройством является аппаратом со сложной структурой потоков. При построении расчетной сетки для поверхности аппарата плотность была снижена с целью обеспечения приемлемого времени сходимости расчета, однако особое внимание было уделено плотности сетки для мешалки. Она была увеличена в связи с наличием мелких деталей.

На основе проведенного подбора оптимальных параметров построения расчетной сетки были выбраны следующие значения:

- минимальный размер ячеек –  $8,40 \cdot 10^{-7}$  мм;
- максимальный размер ячеек – 0,94 мм;
- общее число ячеек составило 116024 элементов.

Третьим этапом при моделировании биореактора средствами вычислительной гидродинамики выступает процесс задания граничных и рабочих условий. На данном этапе задаются основные системы уравнений, их начальные и граничные условия, приводятся значения всех констант и параметров уравнений. Также на данном этапе задаются физико-химические свойства изучаемых объектов системы и сред. Конфигурация расчетного модуля – это выбор конкретных модификаций численных методов, используемых для решения поставленной задачи, задание параметров, контролирующих сходимость, точность решения и влияющих на его устойчивость.

На последнем этапе осуществляется расчет и представление результатов в автоматическом режиме, а также математическое описание поставленной задачи согласно выбранным уравнениям на предыдущем этапе. Непосредственно на самом этапе решения отслеживаются графические данные по невязкам переменных и поиск неустойчивости решения системы. Пакет программ Ansys Fluent обладает широким спектром возможностей для визуальной обработки и представления результатов математического описания системы как в виде графиков и профилей, так и в виде численных данных и таблиц.

При последовательном выполнении каждого этапа происходит комплексное формирование математической модели, которая позволяет описывать гидродинамику внутри различных типов систем, в том числе и в биореакторах суспензионного типа.

Рассмотрим конкретный случай математического описания биореактора суспензионного типа Sartorius VBI Systems (Melsungen, Germany), который использовался в экспериментальном исследовании роста клеток млекопитающих на поверхности микроносителя.

*Математическая модель гидродинамических потоков питательной среды внутри суспензионного биореактора*

На основании вышеуказанных данных была построена геометрическая модель суспензионного биореактора Sartorius VBI Systems объемом 5 л, основные виды которого представлены на рисунках 4.14-4.15.

При помощи встроенного инструмента построения расчетных сеток Ansys Mesh на основе разработанной геометрической модели была создана расчетная сетка для рассматриваемого моделируемого пространства. Ее виды представлены на рисунке 4.16.

Для моделирования гидродинамического режима биореактора были заданы следующие допущения:

1. Все частицы имеют единый диаметр и сферическую форму (180 мкм);
2. Потери энергии отсутствуют, поскольку все столкновения частиц со стенками аппарата и мешалкой являются абсолютно упругими.

3. Плотность, вязкость и коэффициент диффузии питательной среды на протяжении процесса культивирования постоянны;

4. Скорость подачи воздуха для аэрации системы незначительна, ее влиянием на гидродинамику движения жидкости можно пренебречь.

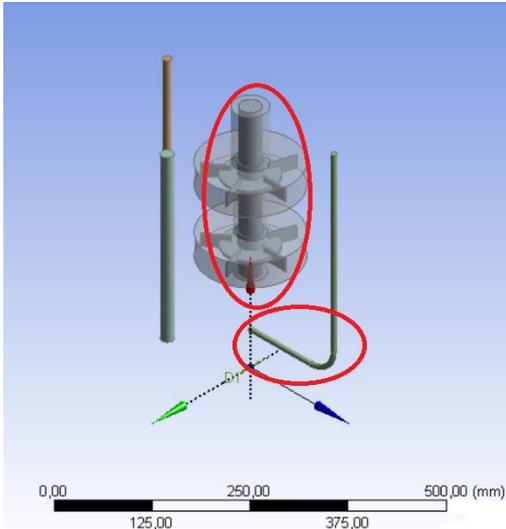


Рисунок 4.14 – Геометрическая модель мешалки биореактора Sartorius VBI Systems и датчиков

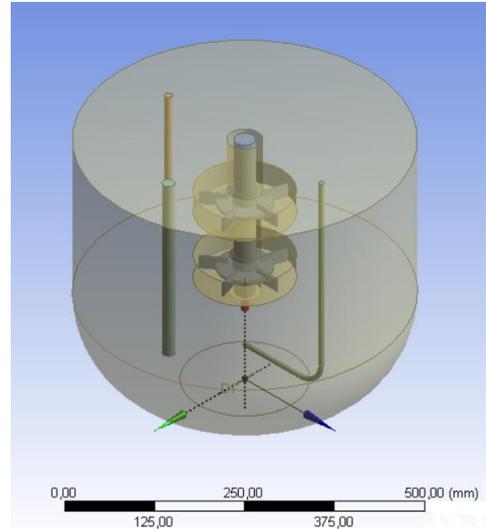
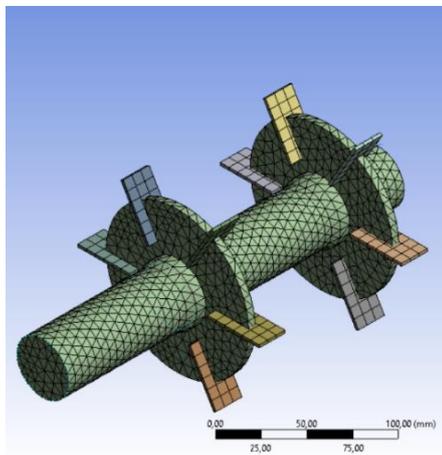
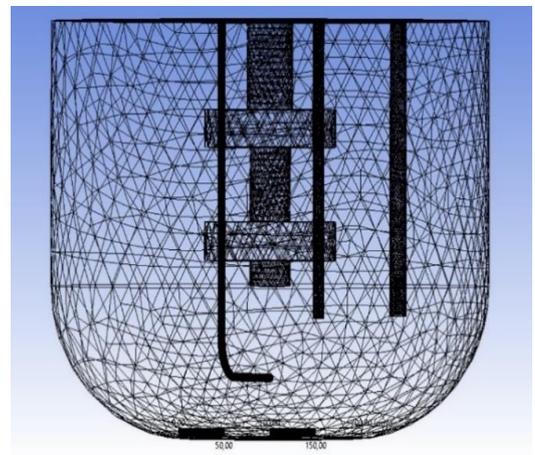


Рисунок 4.15 – Геометрическая модель биореактора Sartorius VBI Systems



а



б

Рисунок 4.16 – Расчетная сетка (а) – мешалки, (б) – биореактора Sartorius VBI Systems

Для моделирования гидродинамического режима внутри биореактора использовалась многофазная модель Эйлера, в которой осуществляется решение уравнений сохранения массы (4.5-4.6) и уравнений движения каждой из фаз (4.7-4.8):

$$\frac{\partial \alpha_1 \rho_1}{\partial t} + \nabla \cdot (\alpha_1 \rho_1 \vec{v}_1) = 0 \quad (4.5)$$

$$\frac{\partial \alpha_2 \rho_2}{\partial t} + \nabla \cdot (\alpha_2 \rho_2 \vec{v}_2) = 0 \quad (4.6)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} (\alpha_1 \rho_1 \vec{v}_1) + \nabla \cdot (\alpha_1 \rho_1 \vec{v}_1 \vec{v}_1) \\ = -\alpha_1 \nabla p + \nabla \cdot \bar{\tau}_1 + \alpha_1 \rho_1 \vec{g} + \sum_{l=1}^2 K_{12} (\vec{v}_1 - \vec{v}_2) \end{aligned} \quad (4.7)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} (\alpha_2 \rho_2 \vec{v}_2) + \nabla \cdot (\alpha_2 \rho_2 \vec{v}_2 \vec{v}_2) \\ = -\alpha_2 \nabla p - \nabla p_2 + \nabla \cdot \bar{\tau}_2 + \alpha_2 \rho_2 \vec{g} - \sum_{l=1}^2 K_{21} (\vec{v}_1 - \vec{v}_2) \end{aligned} \quad (4.8)$$

где индексы 1 и 2 обозначают сплошную (культуральная среда) и дисперсную (микроносители) фазы соответственно;

$t$  – время (с);

$\vec{v}_i$  – вектор скоростей  $i$ -ой фазы (м/с);

$p$  – давление в биореакторе (Па);

$\rho_i$  – плотность  $i$ -ой фазы (кг/м<sup>3</sup>);

$\vec{g}$  – ускорение свободного падения (м/с<sup>2</sup>);

$\bar{\tau}_1$  – тензор напряжений сплошной фазы (Па), рассчитываемый по формуле:

$$\bar{\tau}_1 = \alpha_1 \mu_1 (\nabla \vec{v}_1 + \nabla \vec{v}_1^T) + \alpha_1 (\lambda_1 - \frac{2}{3} \cdot \mu_1) \nabla \cdot \vec{v}_1 \bar{I} \quad (4.9)$$

$\nabla$  – оператор Гамильтона;

$\bar{I}$  – единичный тензор;

$\mu_i$  – динамическая вязкость  $i$ -ой фазы (Па·с);

$\lambda_i$  – объемная вязкость  $i$ -ой фазы, характеризует деформацию объемного сжатия (Па·с);

$K_{12} = K_{21}$  – коэффициент, характеризующий обмен импульсом между фазами 1 и 2.

$$K_{12} = \frac{\alpha_2 \rho_2 f}{\tau_2} \quad (4.10)$$

$$\tau_2 = \frac{\rho_2 d_2^2}{18\mu_1} \quad (4.11)$$

$$f = \frac{C_D Re \alpha_1}{24v_{r,2}^2} \quad (4.12)$$

$$C_D = \left( 0,63 + \frac{4,8}{\sqrt{Re/v_{r,2}}} \right) \quad (4.13)$$

$$v_{r,2} = 0,5 \left( A - 0,06Re + \sqrt{(0,06Re)^2 + 0,12Re(2B - A) + A^2} \right) \quad (4.14)$$

$$A = \alpha_1^{4,14}; \quad B = 0,8\alpha_1^{1,28} \quad (\text{при } \alpha_1 \leq 0,85);$$

$$B = \alpha_1^{2,65} \quad (\text{при } \alpha_1 > 0,85); \quad (4.15)$$

$\alpha_i$  – объемная доля  $i$ -ой фазы:

$$\sum_{i=1}^2 \alpha_i = 1 \quad (4.16)$$

Для оценки турбулентности потоков внутри биореактора была выбрана модель  $k$ - $\varepsilon$ , которая позволяет провести вычисления скорости диссипации энергии по объему аппарата и позволяет оценить уровень механического стресса в аппарате. При решении двух дополнительных уравнений переноса модель межфазной турбулентности для сплошной фазы является более вычислительно интенсивной, чем для модели дисперсной турбулентности, поэтому уравнения имеют вид (4.17-4.18):

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} (\alpha_1 \rho_1 \varepsilon_1) + \nabla \cdot (\alpha_1 \rho_1 \varepsilon_1 \vec{U}_1) \\ = \nabla \cdot \left( \alpha_1 \frac{\mu_{t,1}}{\sigma_\varepsilon} \nabla \varepsilon_1 \right) + \alpha_1 \frac{\varepsilon_1}{k_1} (C_{1\varepsilon} G_{k,1} - C_{2\varepsilon} \rho_1 \varepsilon_1) + \alpha_1 \rho_1 \Pi_{\varepsilon_1} \end{aligned} \quad (4.17)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} (\alpha_1 \rho_1 k_1) + \nabla \cdot (\alpha_1 \rho_1 k_1 \vec{U}_1) \\ = \nabla \cdot \left( \alpha_1 \frac{\mu_{t,1}}{\sigma_k} \nabla k_1 \right) + \alpha_1 G_{k,1} - \alpha_1 \rho_1 \varepsilon_1 + \alpha_1 \rho_1 \Pi_{k_1} \end{aligned} \quad (4.18)$$

где  $k_1$  – кинетическая энергия турбулентности сплошной фазы, ( $\text{м}^2/\text{с}^2$ ).

Причем кинетическая энергия турбулентности рассчитывается как:

$$k_1 = \frac{1}{2} (\overline{v_{1,x}^2} + \overline{v_{1,y}^2} + \overline{v_{1,z}^2}) \quad (4.19)$$

$\varepsilon_1$  – скорость диссипации кинетической энергии сплошной фазы, ( $\text{м}^2/\text{с}^3$ ).

$$\varepsilon_1 = C_\mu^{3/4} \frac{k_1^{3/2}}{l} \quad (4.20)$$

$l$  – характеристический размер турбулентных вихрей (м);

$C_\mu$  – эмпирическая константа.

Зависимость (4.21) основывается на статистической теории Колмогорова:

$$l = \left( \frac{\vartheta^3}{\varepsilon} \right)^{\frac{1}{4}} \quad (4.21)$$

$\vartheta$  – кинематическая вязкость жидкости ( $\text{м}^2/\text{с}$ );

$G_{k,1}$  – производство кинетической энергии сплошной фазы, вызванное градиентом скорости;

$\vec{U}_l$  – вектор средневзвешенных скоростей сплошной фазы;

$\Pi_{\varepsilon_1}, \Pi_{k_1}$  – параметры, характеризующие влияние дисперсной фазы на сплошную среду;

$\sigma_\varepsilon, \sigma_k$  – числа Прандтля соответственно для  $k$  и  $\varepsilon$ ;

$C_{1\varepsilon}, C_{2\varepsilon}$  – эмпирические константы, полученные из опытов с воздухом и водой, являются универсальными для большого числа задач гидродинамики ( $C_{1\varepsilon} = 1.44, C_{2\varepsilon} = 1.92$ ).

Начальными условиями для данных уравнений являются:

$$\begin{aligned} \alpha_1(t=0) &= \alpha_{1,0} & v_1(t=0) &= v_{1,0} & \varepsilon_1(t=0) &= \varepsilon_{1,0} & k_1(t=0) &= k_{1,0} \\ \alpha_2(t=0) &= \alpha_{2,0} & v_2(t=0) &= v_{2,0} & \varepsilon_2(t=0) &= \varepsilon_{2,0} & k_2(t=0) &= k_{2,0} \end{aligned}$$

Граничными условиями для данных уравнений являются:

- неподвижная стенка ( $ст_1$ ):

$$\begin{aligned} v_1(x_{ст_1}, y_{ст_1}, z_{ст_1}) &= 0 & v_2(x_{ст_1}, y_{ст_1}, z_{ст_1}) &= 0 \\ k_1(x_{ст_1}, y_{ст_1}, z_{ст_1}) &= 0 & \varepsilon_1(x_{ст_1}, y_{ст_1}, z_{ст_1}) &= 0 \\ k_2(x_{ст_1}, y_{ст_1}, z_{ст_1}) &= 0 & \varepsilon_2(x_{ст_1}, y_{ст_1}, z_{ст_1}) &= 0 \end{aligned}$$

- подвижная стенка ( $ст_2$ ):

$$v_1(x_{ст_2}, y_{ст_2}, z_{ст_2}) = R(z)\omega \quad v_2(x_{ст_2}, y_{ст_2}, z_{ст_2}) = R(z)\omega$$

$$k_1(x_{ст_2}, y_{ст_2}, z_{ст_2}) = 0 \quad \varepsilon_1(x_{ст_2}, y_{ст_2}, z_{ст_2}) = 0$$

$$k_2(x_{ст_2}, y_{ст_2}, z_{ст_2}) = 0 \quad \varepsilon_2(x_{ст_2}, y_{ст_2}, z_{ст_2}) = 0$$

где  $\omega$  – угловая скорость (рад/с).

При процессе культивирования клеток млекопитающих в суспензионном биореакторе отсутствуют входные и выходные потоки.

В результате моделирования гидродинамического режима внутри биореактора при разных скоростях мешалки: 65, 100 и 130 об/мин были получены следующие профили скоростей (рисунки 4.17-4.19).

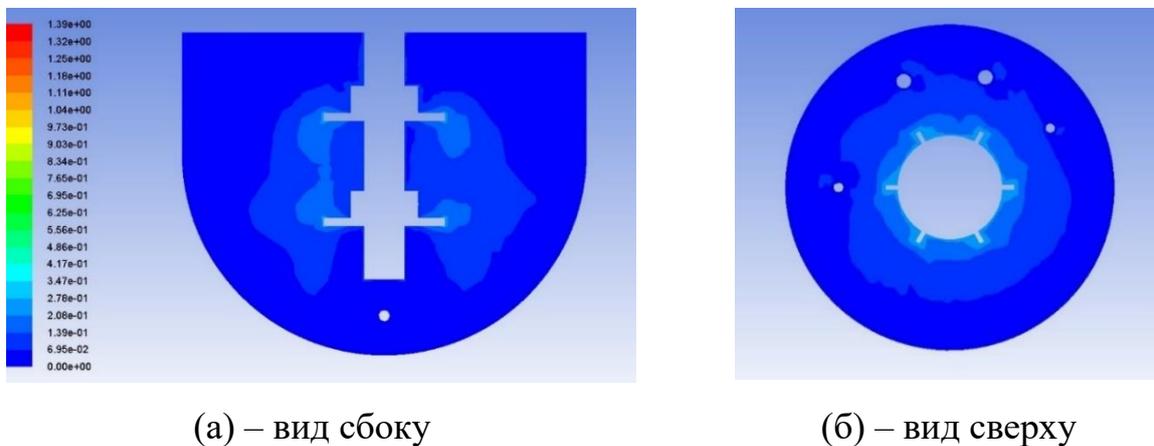


Рисунок 4.17 – Распределение скоростей движения потока питательной среды внутри биореактора при скорости вращения мешалки 65 об/мин

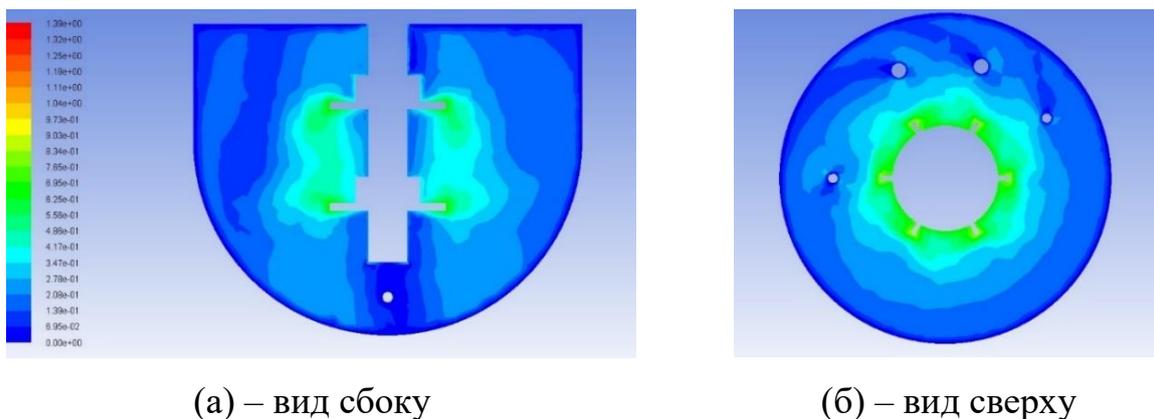
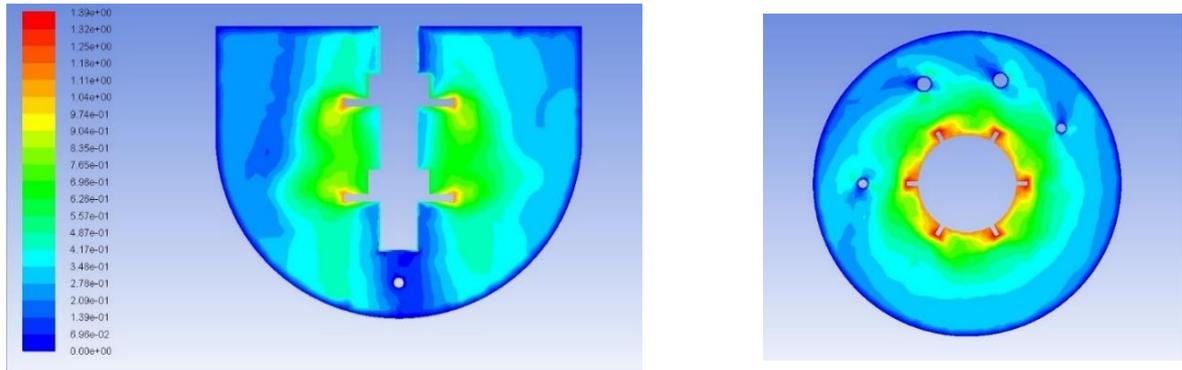


Рисунок 4.18 – Распределение скоростей движения потока питательной среды внутри биореактора при скорости вращения мешалки 100 об/мин

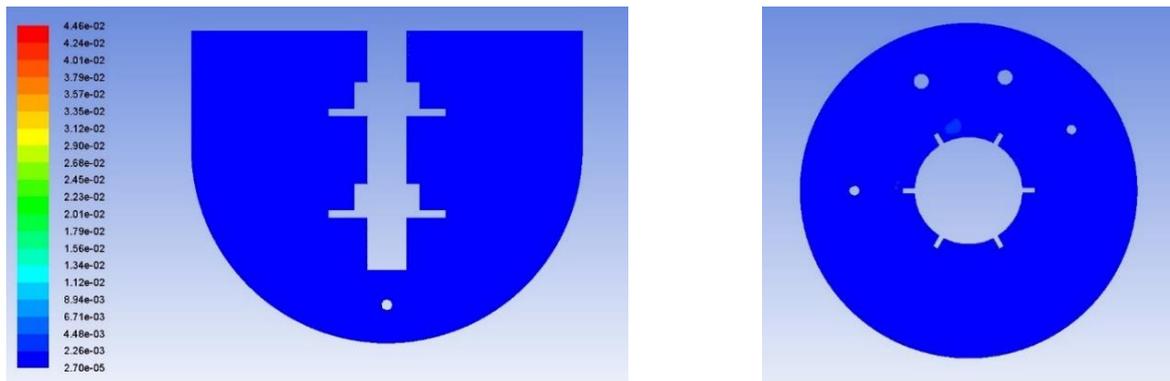


(а) – вид сбоку

(б) – вид сверху

Рисунок 4.19 – Распределение скоростей движения потока питательной среды внутри биореактора при скорости вращения мешалки 130 об/мин

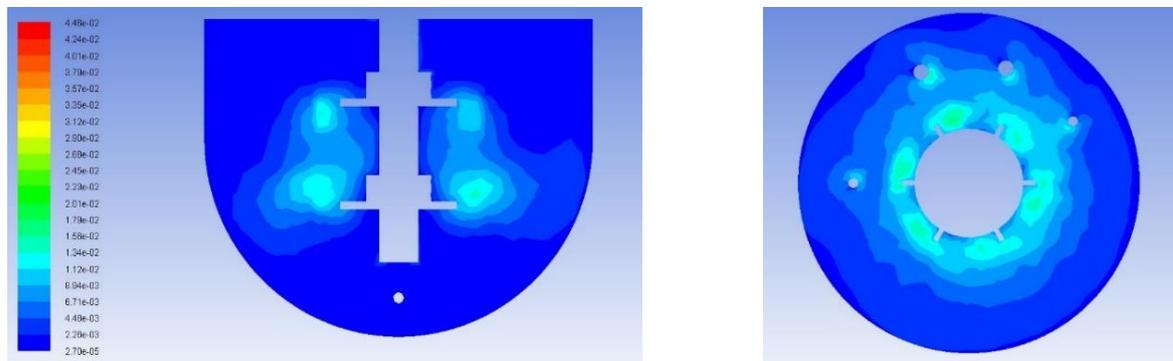
На рисунках 4.20-4.22 приведены профили распределения кинетической энергии турбулентности, полученные в результате моделирования турбулентного режима внутри биореактора при разных скоростях мешалки (65, 100 и 130 об/мин).



(а) – вид сбоку

(б) – вид сверху

Рисунок 4.20 – Профиль распределения кинетической энергии турбулентности для системы при перемешивании 65 об/мин



(а) – вид сбоку

(б) – вид сверху

Рисунок 4.21 – Профиль распределения кинетической энергии турбулентности для системы при перемешивании 100 об/мин

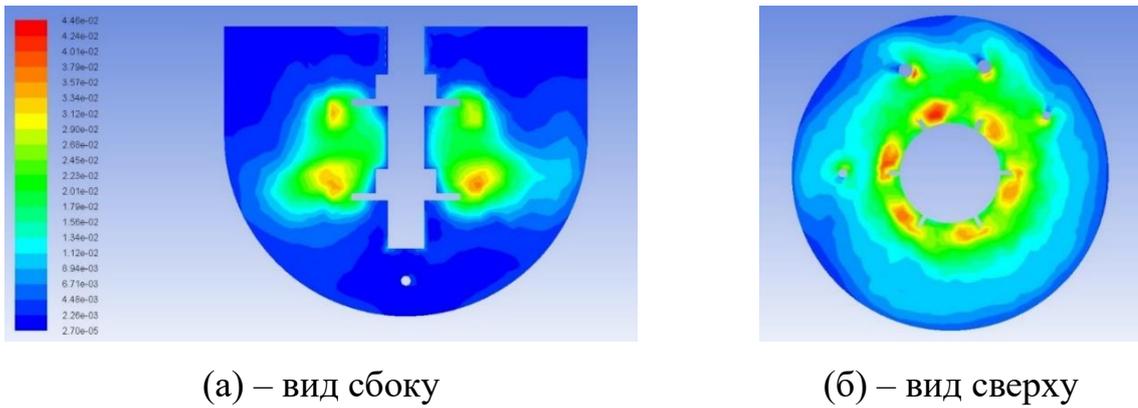


Рисунок 4.22 – Профиль распределения кинетической энергии турбулентности для системы при перемешивании 130 об/мин

Как видно на рисунках 4.20-4.22, с увеличением скорости вращения мешалки увеличивается уровень механического стресса в системе и растет стрессовая зона в биореакторе.

На основании проведенного математического моделирования распределения кинетической энергии турбулентности может быть проведен расчет характеристического размера турбулентного вихря и на его основе может быть подобрана предельная скорость перемешивания, при которой клетки млекопитающих на поверхности микроносителя не будут подвержены критичному уровню механического стресса.

#### 4.2.2 Расчет характеристического размера турбулентных вихрей и подбор предельной скорости перемешивания в биореакторе

При вращении мешалки клетки млекопитающих на поверхности микроносителя могут испытывать механический стресс, который потенциально может привести к гибели клеток. Для снижения риска возникновения механического стресса проводят расчет размера турбулентных вихрей, которые должны быть аналогичны размеру микроносителя [152].

На основании разработанной математической модели турбулентности  $k-\varepsilon$  в зависимости от скорости мешалки могут быть рассчитаны максимальные значения скорости диссипации кинетической энергии и могут быть определены максимальные характеристические размеры турбулентных вихрей по объему

биореактора с помощью уравнения 4.21. Результаты данного расчета приведены в таблице 4.2 и отражены на рисунке 4.23.

Таблица 4.2

Рассчитанные данные скорости диссипации кинетической энергии и характеристического размера турбулентных вихрей в системе

Скорость перемешивания, об/мин	Максимальная скорость диссипации кинетической энергии $\varepsilon$ , $\text{м}^2/\text{с}^3$	Характеристический размер турбулентных вихрей, мкм
65	0,0074	290
75	0,0125	257
85	0,0174	234
90	0,0204	224
95	0,0231	214
100	0,0258	205
105	0,0289	199
110	0,0334	192
115	0,0379	186
120	0,0452	180
125	0,0534	175
130	0,0615	170

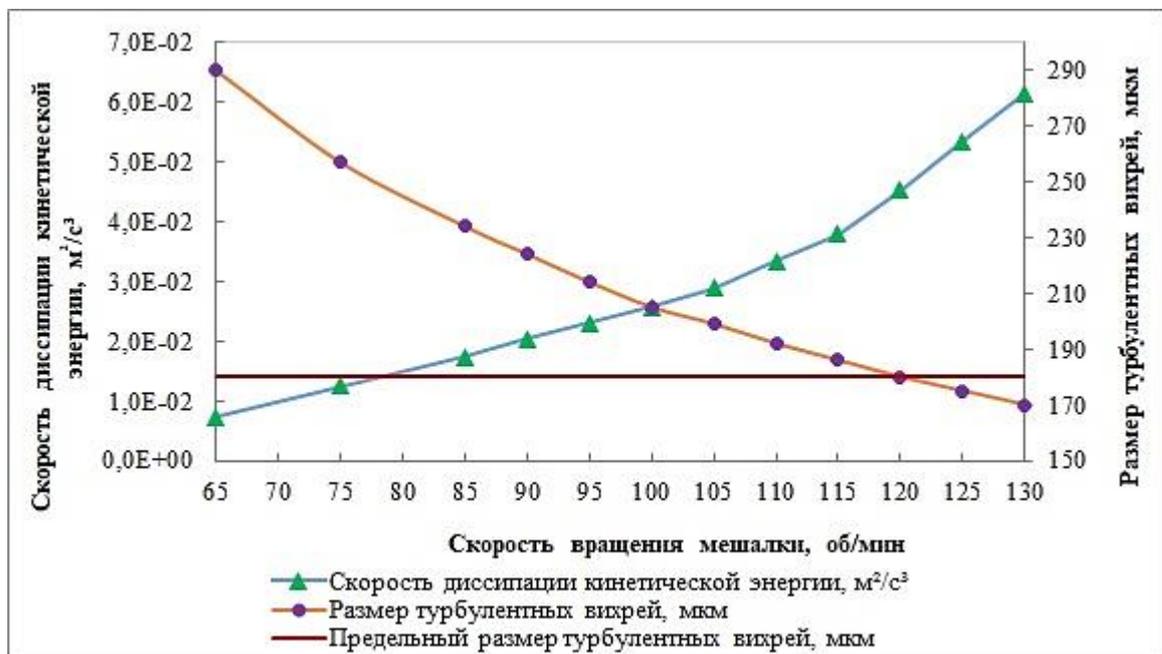


Рисунок 4.23 – Рассчитанные данные по скорости диссипации энергии в системе и характеристических размеров турбулентных вихрей в зависимости от скорости перемешивания

Считается, что клетки подвергаются стрессу на поверхности микроносителя при размерах турбулентных вихрей, соответствующим или меньше их размерам, то есть менее 180 мкм [152]. На основании рассчитанных значений можно сделать вывод, что предельной скоростью перемешивания в системе, при которой клетки не будут подвергаться критичному механическому стрессу, является скорость вращения 120 об/мин.

Таким образом, представленный в данной главе подход позволяет полноценно визуализировать и оптимизировать процесс роста клеток млекопитающих на поверхности микроносителя в суспензионном биореакторе. С помощью разработанного программного модуля на основе клеточных автоматов можно рассчитать оптимальный жизненный цикл клеточной культуры, т.е. подобрать оптимальное количество клеток для первоначального посева на поверхность микроносителя и оптимальное время проведения процесса (с учетом особенностей жизнеспособности клеточной линии), а затем, с помощью программного пакета Ansys Fluent, исследовать гидродинамическую обстановку в суспензионном биореакторе. Гидродинамический анализ системы культивирования клеток позволяет вычислить оптимальную скорость перемешивания для того, чтобы клетки не подвергались критичному механическому стрессу. Согласно расчетам, подобранная скорость вращения – 120 об/мин говорит о благоприятных условиях для роста клеточной культуры и отсутствии гидродинамических факторов, ингибирующих рост клеток.

## Выводы

Основные научные и практические результаты, полученные при выполнении диссертационной работы, заключаются в следующем:

1. Проведен системный анализ области исследований пребиотической активности и процессов культивирования клеток млекопитающих на лабораторном и промышленном уровнях.

2. Разработан проблемно-ориентированный информационно-аналитический комплекс по принятию решений в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих, включающий:

– информационную систему в области культивирования клеток млекопитающих;

– информационную систему «Исследования эффективности пребиотиков»;

– аналитический блок по прогнозированию кинетики роста клеток млекопитающих на микроносителе;

– аналитический блок, связанный с моделированием процессов культивирования в биореакторах.

• Разработаны инфологические модели представления данных и структуры проблемно-ориентированных информационных систем в области пребиотиков и процессов культивирования клеток млекопитающих.

• Разработан и программно реализован алгоритм, позволяющий принимать решение по подбору системы культивирования клеток млекопитающих.

• Создана компьютерная клеточно-автоматная модель по прогнозированию кинетики роста клеток млекопитающих на микроносителе, содержащая оригинальный алгоритм решения и модуль визуализации процесса.

• Разработана математическая модель гидродинамических потоков питательной среды в биореакторе, учитывающая изменение параметра процесса (скорость вращения мешалки), позволяющая прогнозировать и рекомендовать эффективный режим ведения процесса.

• Разработано пользовательское приложение для работы с информационной системой в области культивирования клеток млекопитающих в

среде разработки программного обеспечения Microsoft Visual Studio с применением языка программирования C# (NET Framework), которое может быть использовано для исследовательских целей.

- Разработан и реализован веб-интерфейс для работы с информационно-поисковой системой «Исследования эффективности пребиотиков», позволяющий пользователю в режиме онлайн получать необходимую информацию об исследованиях пребиотической активности.
- Проведена апробация информационных систем.

### Список литературы

1. Кафаров, В. В. Моделирование и системный анализ биохимических производств / В. В. Кафаров, А. Ю. Винаров, Л. С. Гордеев. – М. : Лесная промышленность, 1985. – 344 с.
2. Кафаров, В. В. Системный анализ процессов химической технологии. Топологический принцип формализации / В. В. Кафаров, И. Н. Дорохов. – М. : Наука, 1979. – 394 с.
3. Евдокимов, И. А. Оборудование биотехнологических производств : учебное пособие для вузов / И. А. Евдокимов [и др.]. – М. : Юрайт, 2020. – 206 с. – Текст : электронный // ЭБС Юрайт [сайт]. – URL : <https://urait.ru/bcode/447483> (дата обращения: 25.09.2020).
4. Битюков, В. К. Информационная модель для классификации состояний биотехнологической системы / В. К. Битюков, Е. А. Балашова, Е. А. Саввина // Сборник статей II международной научно-практической интернет-конференции. – Воронеж: ВГУИТ, 2014. – С. 125-129.
5. Барабанов, В. Ф. Программно-аппаратный комплекс для автоматизации процесса классификации разногабаритных компонентов / В. Ф. Барабанов, М. С. Резуев, Н. И. Гребенникова // Вестник Воронежского государственного технического университета. – 2013. – Т. 9. – №. 4.
6. Дворецкий, Д. С. Интегрированное проектирование энерго- и ресурсосберегающих химико-технологических процессов и систем управления: стратегия, методы и применение / Д. С. Дворецкий, С. И. Дворецкий, Г. М. Островский // Теоретические основы химической технологии. – 2008. – Т. 42. – №. 1. – С. 29-39.
7. Osmakova, A. Recent biotechnology developments and trends in the Russian Federation / A. Osmakova, M. Kirpichnikov, V. Popov // New biotechnology. – 2018. – Vol. 40. – P. 76-81.
8. Maltby, R. Computational studies of a novel magnetically driven single-use-technology bioreactor : A comparison of mass transfer models / R. Maltby, S. Tian, Y. M. J. Chew // Chemical Engineering Science. – 2018. – Vol. 187. – P. 157-173.

9. Bayne, K. et al. A novel single-use bioreactor system for expansion of human mesenchymal stem stromal cells // *Cytotherapy*. – 2019. – Vol. 21. – №. 5. – P. S79.
10. Rayhane, H. et al. From flasks to single used bioreactor: scale-up of solid state fermentation process for metabolites and conidia production by *Trichoderma asperellum* // *Journal of environmental management*. – 2019. – Vol. 252. – pp. 109496.
11. Chew, K. W. et al. Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation : A review // *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. – 2018. – Vol. 91. – P. 332-344.
12. O’Flaherty, R. et al. Mammalian cell culture for production of recombinant proteins : A review of the critical steps in their biomanufacturing // *Biotechnology advances*. – 2020. – pp. 107552.
13. Łacki, K. M. Downstream Process Design, Scale-Up Principles and Process Modeling / K. M. Łacki, J. Joseph, K. O. Eriksson // *Biopharmaceutical Processing*. – Elsevier, 2018. – P. 637-674.
14. Zimdahl, R.L. *Biotechnology // Agriculture’s Ethical Horizon*. – Elsevier, 2006. – P. 137-177.
15. Kjemtrup, S. *Biotechnology: Pharming* / S. Kjemtrup, T.L. Talarico, V. Ursin // *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*. – Elsevier, 2014. – P. 117-133.
16. Junne, S. How scalable and suitable are single-use bioreactors? / S. Junne, P. Neubauer // *Current Opinion in Biotechnology*. – 2018. – Vol. 53. – P. 240-247.
17. Винаров, А. Ю. Системный подход к выбору оптимального биореактора // *Биотехнология : состояние и перспективы развития*. – 2015. – С. 337-338.
18. Eibl, R. et al. *Cell and tissue reaction engineering*. – Springer Science & Business Media, 2008.
19. Werner, S. et al. Innovative, non-stirred bioreactors in scales from milliliters up to 1000 liters for suspension cultures of cells using disposable bags and containers a Swiss contribution // *CHIMIA International Journal for Chemistry*. – 2010. – Vol. 64. – №. 11. – P. 819-823.

20. Винаров, А. Ю. Процессы и аппараты биотехнологии : ферментационные аппараты : учебное пособие для вузов / А. Ю. Винаров, Л. С. Гордеев, А. А. Кухаренко, В. И. Панфилов; под редакцией В. А. Быкова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Юрайт, 2019. – 274 с.
21. Kazemzadeh, A. et al. Mass transfer in a single-use angled-shaft aerated stirred bioreactor applicable for animal cell culture // *Chemical Engineering Science*. – 2020. – Vol. 219. – P. 115606.
22. Figures, K. Sartorius AG, Germany // *Filtration Industry Analyst*. – 2020. – P. 8.
23. Stedim, S. Sartorius Stedim Biotech expands single-use bioreactor portfolio // *Membrane Technology*. – 2009.
24. Levine, H. L. et al. Single-use technology and modular construction // *BioProcess Int*. – 2013. – Vol. 11. – №. 4. – P. 40-45.
25. Меледина, Т. В. Аппаратурно-методическая база экспериментов в области пищевой биотехнологии продуктов из растительного сырья / Т. В. Меледина, В. А. Иванова, А. В. Федоров // СПб. : Университет ИТМО. – 2017.
26. Eibl, R. et al. Disposable bioreactors: the current state-of-the-art and recommended applications in biotechnology // *Applied microbiology and biotechnology*. – 2010. – Vol. 86. – №. 1. – P. 41-49.
27. Löffelholz, C. et al. Dynamic single-use bioreactors used in modern liter-and m<sup>3</sup>-scale biotechnological processes: engineering characteristics and scaling up // *Disposable Bioreactors II*. – 2013. – P. 1-44.
28. Rodrigues, C. A. V. et al. Stem cell cultivation in bioreactors // *Biotechnology advances*. – 2011. – Vol. 29. – №. 6. – P. 815-829.
29. Bai, Y. Characterization of power input and its impact on mass transfer in a rocking disposable bioreactor / Y. Bai, M. Moo-Young, W. A. Anderson // *Chemical Engineering Science*. – 2019. – Vol. 209. – P. 115-183.
30. Pollard, D. Disposable Bioreactors / D. Pollard, C. Kistler // *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. – Elsevier, 2017. – P. 353-379.

31. P Pinto, D. S., da Silva, C. L., Cabral, J. M. S. Scalable Expansion of Mesenchymal Stem / Stromal Cells in Bioreactors : A Focus on Hydrodynamic Characterization. – 2019.
32. Karnieli, O. Bioreactors and downstream processing for stem cell manufacturing // Stem Cell Manufacturing. – Elsevier, 2016. – P. 141-160.
33. Tavassoli, H. et al. Large-scale production of stem cells utilizing microcarriers: a biomaterials engineering perspective from academic research to commercialized products // Biomaterials. – 2018. – Vol. 181. – P. 333-346.
34. Lennaertz, A. et al. Viral vector production in the integrity® iCELLis® single-use fixed-bed bioreactor, from bench-scale to industrial scale // BMC proceedings. – BioMed Central, 2013. – Vol. 7. – №. 6. – P. 1-2.
35. Badenes, S. M. et al. Microcarrier culture systems for stem cell manufacturing // Stem Cell Manufacturing. – Elsevier, 2016. – P. 77-104.
36. Grein, T. A. et al. Multiphase mixing characteristics in a microcarrier-based stirred tank bioreactor suitable for human mesenchymal stem cell expansion // Process Biochemistry. – 2016. – Vol. 51. – №. 9. – P. 1109-1119.
37. Pieralisi, I. et al. Microcarriers' suspension and flow dynamics in orbitally shaken bioreactors // Chemical Engineering Research and Design. – 2016. – Vol. 108. – P. 198-209.
38. Gil, L. V. G. et al. Feasibility of the Taylor vortex flow bioreactor for mesenchymal stromal cell expansion on microcarriers // Biochemical Engineering Journal. – 2020. – Vol. 162. – pp. 107710.
39. Sananta, P. et al. Collagen scaffold for mesenchymal stem cell from stromal vascular fraction (biocompatibility and attachment study): Experimental paper // Annals of Medicine and Surgery. – 2020. – Vol. 59. – P. 31-34.
40. Chen, J. et al. 3D Porous poly (lactic acid)/regenerated cellulose composite scaffolds based on electrospun nanofibers for biomineralization // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 2020. – Vol. 585. – pp. 124048.

41. Afjoul, H., Shamloo, A., Kamali, A. Freeze-gelled alginate / gelatin scaffolds for wound healing applications: An in vitro, in vivo study // *Materials Science and Engineering: C*. – 2020. – Vol. 113. – pp. 110957.
42. Li, B. et al. Past, present, and future of microcarrier-based tissue engineering // *Journal of orthopaedic translation*. – 2015. – Vol. 3. – №. 2. – P. 51-57.
43. ООО "БИОТЕХНО" : [сайт]. – URL : <https://biotechno.ru> (дата обращения: 15.10.2020). – Текст : электронный.
44. Компания ФИЗЛАБПРИБОР : [сайт]. – URL : <https://fizlabpribor.ru/Zellwerk/Zellwerk.htm> (дата обращения: 25.09.2020). – Текст : электронный.
45. Splan, D. et al. Microcarrier-based Xeno-free expansion of human mesenchymal stromal cells in a single-use stirred-tank bioreactor // *Cytherapy*. – 2018. – Vol. 20. – №. 5. – P. S51.
46. Olmos, E. et al. Critical agitation for microcarrier suspension in orbital shaken bioreactors: Experimental study and dimensional analysis // *Chemical Engineering Science*. – 2015. – Vol. 122. – P. 545-554.
47. Niss, K. Microcarrier enabled expansion of human mesenchymal stem cells in the mobius® 50L bioreactor // *Cytherapy*. – 2013. – Vol. 15. – №. 4. – P. S49.
48. Heathman, T. R. J. et al. Development of a process control strategy for the serum-free microcarrier expansion of human mesenchymal stem cells towards cost-effective and commercially viable manufacturing // *Biochemical Engineering Journal*. – 2019. – Vol. 141. – P. 200-209.
49. Кухтевич, И. В. Микрофлюидные устройства для исследований клеток (обзор) / И. В. Кухтевич, А. А. Евстапов, А. С. Букатин // *Научное приборостроение*. – 2013. – Т. 23. – №. 4.
50. Fischer, A. E. et al. A high-throughput drop microfluidic system for virus culture and analysis // *Journal of virological methods*. – 2015. – Vol. 213. – P. 111-117.
51. Liu, W. Microfluidics in single-cell virology: Technologies and applications / W. Liu, H. He, S. Y. Zheng // *Trends in Biotechnology*. – 2020.

52. Rothbauer, M. et al. Tomorrow today: organ-on-a-chip advances towards clinically relevant pharmaceutical and medical in vitro models // *Current opinion in biotechnology*. – 2019. – Vol. 55. – P. 81-86.
53. Moradi, E. Microfluidic organ-on-a-chip models of human liver tissue / E. Moradi, S. Jalili-Firoozinezhad, M. Solati-Hashjin // *Acta Biomaterialia*. – 2020.
54. Santbergen, M. J. C. et al. Online and in situ analysis of organs-on-a-chip // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2019. – Vol. 115. – P. 138-146.
55. Ng, P. et al. Organs-on-Chips: a new paradigm for safety assessment of drug-induced thrombosis // *Current Opinion in Toxicology*. – 2019. – Vol. 17. – P. 1-8.
56. Родченкова, В. Микрофлюидные чипы-конструктор для разработчика. Решения компании Dolomite / В. Родченкова, И. Шахнович // *Аналитика*. – 2017. – №. 3. – С. 60-69.
57. Van Duinen, V. et al. Microfluidic 3D cell culture: from tools to tissue models // *Current opinion in biotechnology*. – 2015. – Vol. 35. – P. 118-126.
58. Sattari, A., Hanafizadeh, P., Hoorfar, M. Multiphase flow in microfluidics: From droplets and bubbles to the encapsulated structures // *Advances in Colloid and Interface Science*. – 2020. – pp. 102208.
59. Zhu, K. et al. Effects of encapsulation on the chemical inhibition of anaerobic hydrogen-and methane-producing microbial cells // *Bioresource Technology Reports*. – 2020. – Vol. 11. – pp. 100451.
60. Yap, L. S., Yang, M. C. Thermo-reversible injectable hydrogel composing of pluronic F127 and carboxymethyl hexanoyl chitosan for cell-encapsulation // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2020. – Vol. 185. – pp. 110606.
61. An, C. et al. Continuous microfluidic encapsulation of single mesenchymal stem cells using alginate microgels as injectable fillers for bone regeneration // *Acta Biomaterialia*. – 2020. – Vol. 111. – P. 181-196.
62. Hamdallah, S. I. et al. Microfluidics for pharmaceutical nanoparticle fabrication: The truth and the myth // *International journal of pharmaceutics*. – 2020. – Vol. 584. – pp. 119408.

63. Wingflow AG : [сайт]. – URL : <https://www.wingflow.com/> (дата обращения: 15.10.2020). – Текст : электронный.

64. Dudek, M. et al. Microfluidic tools for studying coalescence of crude oil droplets in produced water // *Chemical Engineering Science*. – 2018. – Vol. 191. – P. 448-458.

65. Dudek, M. et al. The effect of dissolved gas on coalescence of oil drops studied with microfluidics // *Journal of colloid and interface science*. – 2018. – Vol. 528. – P. 166-173.

66. Дубровин, А. С. Интеграция объектных и реляционных возможностей СУБД ключевых систем информационной инфраструктуры / А. С. Дубровин, Д. С. Сайко, А. В. Скрыпников, Е. В. Чернышова, Е. Ю. Микова // *Фундаментальные исследования*. – 2016. – №. 9-2. – С. 253-257.

67. Меньшутина, Н. В. Современные информационные системы хранения, обработки и анализа данных для предприятий химической и смежных отраслей: учебное пособие / Н. В. Меньшутина, А. В. Матасов. – М. : Российский хим.-технологический ун-т им. Д. И. Менделеева, 2011. – 307 с.

68. Битюков, В. К. Системный анализ функционирования сетевой системы управления с передачей информации по каналам с конкурирующим методом доступа / В. К. Битюков, А. Е. Емельянов // *Сборник статей II международной научно-практической интернет-конференции*. – Воронеж: ВГУИТ, 2014. – С. 103-114.

69. Горлушкина, Н. Н. Системный анализ и моделирование информационных процессов и систем // СПб. : Университет ИТМО. – 2016.

70. Битюков, В. К. Математическое моделирование объектов управления в химической промышленности: учебное пособие / В. К. Битюков. – Воронеж: ВГУИТ, 2011. – 195 с.

71. Алиев, Т. И. Основы проектирования систем // С-Пб. : Университет ИТМО. – 2015. – С. 120.

72. Трутнев, Д. Р. Архитектуры информационных систем. Основы проектирования: Учебное пособие // СПб. : НИУ ИТМО. – 2012. – Т. 66. – С. 2.

73. Siau, K. Web-Based Information Systems: Developing a Design Theory / K. Siau, X. F. Chen, X. Tan // *AMCIS 2007 Proceedings*. – 2007. – P. 283.
74. Подвальный, С. Л. Информационно-управляющие системы мониторинга сложных объектов. – 2010.
75. Хаустов, И. А. Синтез информационной системы анализа и управления процессом производства полимерных композиций / И. А. Хаустов, О. В. Карманова, А. М. Скачков // *Материалы LIV отчетной научной конференции преподавателей и научных сотрудников ВГУИТ за 2015 год*. – 2016. – С. 55-57.
76. Степин, О. А. Современные СУБД для реализации информационных систем / О. А. Степин, А. А. Кукушкин // *World science : problems and innovations*. – 2018. – С. 35-37.
77. Ильин, И. В. Использование облачных технологий при построении информационных систем кластера / И. В. Ильин, А. Б. Анисифоров // *Экономика и управление*. – 2012. – №. 7 (81).
78. Гайнанова, Р. Ш. Создание клиент-серверных приложений / Р. Ш. Гайнанова, О. А. Широкова // *Вестник Казанского технологического университета*. – 2017. – Т. 20. – №. 9.
79. Amirkia, V. Cell-culture database: literature-based reference tool for human and mammalian experimentallybased cell culture applications / V. Amirkia, P. Qiubao // *Bioinformation*. – 2012. – Vol. 8. – №. 5. – P. 237.
80. Leesley, M. E. Databases for computer-aided process plant design / M. E. Leesley, A. P. Buchmann // *Computers & Chemical Engineering*. – 1980. – Vol. 4. – №.1. – P. 79-83.
81. Белоножко, П. П. и др. Свободные облачные аппаратно-программные платформы. Аналитический обзор // *Вестник евразийской науки*. – 2016. – Т. 8. – №. 6 (37).
82. Боровской, И. Г. Сравнительный анализ настольных и клиент-серверных СУБД / И. Г. Боровской, Е. А. Шельмина // *Доклады Томского государственного университета систем управления и радиоэлектроники*. – 2017. – Т. 20. – №. 4.

83. Sun, Q. et al. Web resources for microbial data // *Genomics, proteomics & bioinformatics*. – 2015. – Vol. 13. – №. 1. – P. 69-72.

84. Microbesonline : [сайт]. – URL : <http://meta.microbesonline.org> (дата обращения: 15.10.2020). – Текст : электронный.

85. Василевская, А. В. Облачные технологии как современная альтернатива классическим СУБД / А. В. Василевская, М. А. Колотилина // *Проблемы совершенствования организации производства и управления промышленными предприятиями: Межвузовский сборник научных трудов*. – 2019. – №. 2. – С. 205-208.

86. Меньшутина, Н. В. и др. Цифровые двойники новых материалов: клеточно-автоматное моделирование структуры и свойств : учебно-методическое пособие : [по направлениям 18.03.01 – Химическая технология и 01.03.03 – Механика и математическое моделирование] / Н. В. Меньшутина, И. В. Лебедев, Е. В. Гусева, А. В. Колнооченко; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева". – Москва : РХТУ им. Д.И. Менделеева , 2020. – 104 с. – 100 экз. – ISBN 978-5-7237-1779-4. – Текст : непосредственный.

87. Wolfram, S. A new kind of science. – Champaign, IL : Wolfram media, 2002. – Vol. 5. – P. 130.

88. Lis, M. et al. GPU-based massive parallel Kawasaki kinetics in the dynamic Monte Carlo simulations of lipid nanodomains // *Journal of chemical theory and computation*. – 2012. – Vol. 8. – №. 11. – P. 4758-4765.

89. Deutsch, A. et al. Cellular automaton modeling of biological pattern formation. – Birkhäuser Boston, 2005.

90. Meakin, P. A historical introduction to computer models for fractal aggregates // *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. – 1999. – Vol. 15. – №. 2. – P. 97-117.

91. Eden, M. et al. A two-dimensional growth process // Proceedings of the fourth Berkeley symposium on mathematical statistics and probability. – Berkeley : Univ of California Press, 1961. – Vol. 4. – P. 223-239.
92. Eden, M. A probabilistic model for morphogenesis // Symposium on information theory in biology. – Pergamon Press, New York, 1958. – P. 359-370.
93. Czarnecki, J. S. et al. Cellular automata simulation of osteoblast growth on microfibrillar-carbon-based scaffolds // Tissue Engineering Part A. – 2014. – Vol. 20. – №. 23-24. – P. 3176-3188.
94. Ishida, T. Simulations of living cell origins using a cellular automata model // Origins of Life and Evolution of Biospheres. – 2014. – Vol. 44. – №. 2. – P. 125-141.
95. Santos, J. Emergent protein folding modeled with evolved neural cellular automata using the 3D HP model / J. Santos, P. Villot, M. Diéguez // Journal of Computational Biology. – 2014. – Vol. 21. – №. 11. – P. 823-845.
96. Kawaharada, A. et al. Cellular automata automatically constructed from a bioconvection pattern // Recent Advances in Natural Computing. – Springer, Tokyo, 2016. – P. 15-25.
97. Song, J. H. A model to predict long-term performance of vapor-phase bioreactors: a cellular automaton approach / J. H. Song, K. A. Kinney // Environmental science & technology. – 2002. – Vol. 36. – №. 11. – P. 2498-2507.
98. Laspidou, C. S. Cellular-automata and individual-based approaches for the modeling of biofilm structures: Pros and cons / C. S. Laspidou, A. Kungolos, P. Samaras // Desalination. – 2010. – Vol. 250. – №. 1. – P. 390-394.
99. Beyenal, H. Modeling mass transport and microbial activity in stratified biofilms / H. Beyenal, Z. Lewandowski // Chemical Engineering Science. – 2005. – Vol. 60. – №. 15. – P. 4337-4348.
100. Kubica, K. An application of cellular automata to model a lipid membrane / K. Kubica, J. Kuczera // Applied mathematics and computation. – 1990. – Vol. 39. – №. 1. – P. 49-59.

101. Wurthner, J. U. A cellular automaton model of cellular signal transduction / J. U. Wurthner, A. K. Mukhopadhyay, C. J. Peimann // *Computers in biology and medicine*. – 2000. – Vol. 30. – №. 1. – P. 1-21.

102. Youssef, B. B. A parallel cellular automata algorithm for the deterministic simulation of 3-D multicellular tissue growth // *Cluster Computing*. – 2015. – Vol. 18. – №. 4. – P. 1561-1579.

103. Zupanc, G. K. H. Stochastic cellular automata model of tumorous neurosphere growth: Roles of developmental maturity and cell death / G. K. H. Zupanc, F. B. Zupanc, R. Sipahi // *Journal of theoretical biology*. – 2019. – Vol. 467. – P. 100-110.

104. Рахматулин, Х. А. Основы газодинамики взаимопроникающих движений сжимаемых сред // *Прикладная математика и механика*. – 1956. – Т. 20. – №. 2. – С. 184-195.

105. Нигматулин, Р. И. Основы механики гетерогенных сред / Р.И. Нигматулин. – М. : Наука, 1978.

106. Нигматулин, Р. И. Динамика многофазных сред: [в 2 т.] Ч. 1. / Р.И. Нигматулин. – М. : Наука, 1987. – 464 с.

107. Нигматулин, Р. И. Динамика многофазных сред: [в 2 т.] Ч. 2. / Р.И. Нигматулин. – М. : Наука, 1987. – 336 с.

108. Седов, Л. И. Механика сплошной среды: [в 2 т.] / Л.И. Седов. – М. : Наука, 1976. – 536 с.

109. Razmi, H. CFD simulation of an industrial hydrocyclone based on multiphase particle in cell (MPPIC) method / H. Razmi, A. S. Goharrizi, A. Mohebbi // *Separation and Purification Technology*. – 2019. – Vol. 209. – P. 851-862.

110. Shirzadi, M. Improvement of k-epsilon turbulence model for CFD simulation of atmospheric boundary layer around a high-rise building using stochastic optimization and Monte Carlo Sampling technique / M. Shirzadi, P. A. Mirzaei, M. Naghashzadegan // *Journal of Wind Engineering and Industrial Aerodynamics*. – 2017. – Vol. 171. – P. 366-379.

111. Liu, Y. Study on CFD–PBM turbulence closures based on  $k$ – $\varepsilon$  and Reynolds stress models for heterogeneous bubble column flows / Y. Liu, O. Hinrichsen // *Computers & Fluids*. – 2014. – Vol. 105. – P. 91-100.

112. Ansys Fluent documentation : [сайт]. – URL : [https://www.afs.enea.it/project/neptunius/docs/fluent/html/th/main\\_pre.htm](https://www.afs.enea.it/project/neptunius/docs/fluent/html/th/main_pre.htm) (дата обращения: 15.10.2020). – Текст : электронный.

113. Helal, M. M. et al. Numerical prediction of sheet cavitation on marine propellers using CFD simulation with transition-sensitive turbulence model // *Alexandria engineering journal*. – 2018. – Vol. 57. – №. 4. – P. 3805-3815.

114. Fu, C. Turbulence modeling effects on the CFD predictions of flow over a NASCAR Gen 6 racecar / C. Fu, M. Uddin, A. C. Robinson // *Journal of Wind Engineering and Industrial Aerodynamics*. – 2018. – Vol. 176. – P. 98-111.

115. Delafosse, A. et al. Comparison of hydrodynamics in standard stainless steel and single-use bioreactors by means of an Euler-Lagrange approach // *Chemical Engineering Science*. – 2018. – Vol. 188. – P. 52-64.

116. Parekh, J. Euler–Euler multiphase CFD-simulation with full Reynolds stress model and anisotropic bubble-induced turbulence / J. Parekh, R. Rzehak // *International Journal of Multiphase Flow*. – 2018. – Vol. 99. – P. 231-245.

117. Pico, P. et al. Analysis of the explosion behaviour of wheat starch/pyrolysis gases hybrid mixtures through experimentation and CFD-DPM simulations // *Powder Technology*. – 2020. – Vol. 374. – P. 330-347.

118. Theobald, D. W. et al. Implications of hydrodynamics on the design of pulsed sieve-plate extraction columns: A one-fluid multiphase CFD model using the volume of fluid method // *Chemical Engineering Science*. – 2020. – Vol. 221. – pp. 115640.

119. Du, W. et al. Advanced understanding of local wetting behaviour in gas-liquid-solid packed beds using CFD with a volume of fluid (VOF) method // *Chemical Engineering Science*. – 2017. – Vol. 170. – P. 378-392.

120. Kleiner, T. CFD model and simulation of pure substance condensation on horizontal tubes using the volume of fluid method / T. Kleiner, S. Rehfeldt, H. Klein // *International Journal of Heat and Mass Transfer*. – 2019. – Vol. 138. – P. 420-431.

121. Basavarajappa, M. CFD simulation of single-phase flow in flotation cells: Effect of impeller blade shape, clearance, and Reynolds number / M. Basavarajappa, S. Miskovic // International Journal of Mining Science and Technology. – 2019. – Vol. 29. – №. 5. – P. 657-669.

122. Niño, L. et al. Applicability of a modified breakage and coalescence model based on the complete turbulence spectrum concept for CFD simulation of gas-liquid mass transfer in a stirred tank reactor // Chemical Engineering Science. – 2020. – Vol. 211. – pp. 115272.

123. Liu, B. et al. Decompression of hydrogen – natural gas mixtures in high-pressure pipelines: CFD modelling using different equations of state // International Journal of Hydrogen Energy. – 2019. – Vol. 44. – №. 14. – P. 7428-7437.

124. Verma, R. et al. Computational fluid dynamic analysis of hydrodynamic shear stress generated by different impeller combinations in stirred bioreactor // Biochemical Engineering Journal. – 2019. – Vol. 151. – P. 107312.

125. Jossen, V. et al. Growth behavior of human adipose tissue-derived stromal/stem cells at small scale: Numerical and experimental investigations // Bioengineering. – 2018. – Vol. 5. – №. 4. – P. 106.

126. Колмогоров, А. Н. Локальная структура турбулентности в несжимаемой вязкой жидкости при очень больших числах Рейнольдса // Успехи физических наук. – 1967. – Т. 93. – №. 11. – С. 476-481.

127. Кафаров, В. В. Математическое моделирование основных процессов химических производств / В. В. Кафаров, М. Б. Глебов. – М. : Высшая школа, 1991.

128. Авцинов, И. А. Моделирование периодического процесса культивирования микроорганизмов / И. А. Авцинов, Н. В. Суханова, Ю. Е. Кожевников // Вестник Тамбовского государственного технического университета. – 2018. – Т. 24. – №. 1.

129. De Angelis, E. Nonlinear hydrodynamic models of traffic flow modelling and mathematical problems // Mathematical and computer modelling. – 1999. – Vol. 29. – №.7. – P. 83-95.

130. Aroonwilas, A. et al. Mathematical modelling of mass-transfer and hydrodynamics in CO<sub>2</sub> absorbers packed with structured packings // *Chemical Engineering Science*. – 2003. – Vol. 58. – №. 17. – P. 4037-4053.

131. Шурина, Э. П. Анализ алгоритмов методов конечных элементов и конечного объема на неортогональных сетках при решении уравнений Навье–Стокса / Э. П. Шурина, Т. В. Войтович // *Вычислительные технологии*. – 1997. – Т.2. – №. 4.

132. Курочкин, В. Е. Обзор математических моделей, описывающих процесс транспорта примесей и одиночных частиц в потоке жидкости / В. Е. Курочкин, Б. П. Шарфарец, Е. Б. Шарфарец // *Научное приборостроение*. – 2015. – Т. 25. – №. 4.

133. Chiesa, M. et al. Numerical simulation of particulate flow by the Eulerian–Lagrangian and the Eulerian–Eulerian approach with application to a fluidized bed // *Computers&Chemical engineering*. – 2005. – Vol. 29. – №. 2. – P. 291-304.

134. Хвостов, А. А. Разработка программного обеспечения системы мониторинга производства на языке C++ с использованием математической модели технологического процесса А. А. Хвостов [и др.]. – Воронеж : Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2014. – 117 с.

135. Тихомиров, С. Г. и др. Программно-аппаратный комплекс для управления биотехнологическими системами с использованием интеллектуальных информационных технологий // *Вестник ВГУ. Серия: Системный анализ и информационные технологии*. – 2019. – №. 3. – С. 158-165.

136. Тихомиров, С. Г. и др. Математическое моделирование процесса термоокислительной деструкции полибутадиена в растворе // *Химическое и нефтегазовое машиностроение*. – 2018. – №. 8. – С. 10-13.

137. Малиенко, Е. С. Механизмы реализации экспертных систем в медицине / Е. С. Малиенко, Ю. В. Бугаев // *Материалы студенческой научной конференции*. – 2016. – С. 413.

138. Лубенцова, Е. В. Выбор и обоснование приоритетных задач управления в биотехнологическом производстве с учетом технологических рисков / Е. В.

Лубенцова, В. Ф. Лубенцов // Электронный сетевой политематический журнал "Научные труды КубГТУ". – 2019. – №. 6. – С. 110-124.

139. Фесенко, Э. О. Основы автоматизированного комплекса на основе ЭВМ для управления биотехнологическими исследованиями // Студенческие научные достижения. – 2018. – С. 30-32.

140. Cotabarren, J. et al. Biotechnological, biomedical, and agronomical applications of plant protease inhibitors with high stability: A systematic review // Plant Science. – 2020. – Vol. 292. – pp. 110398.

141. Massart, S. et al. Development of real-time PCR using Minor Groove Binding probe to monitor the biological control agent *Candida oleophila* (strain O) // Journal of microbiological methods. – 2005. – Vol. 60. – №. 1. – P. 73-82.

142. Матвейкин, В. Г. и др. Программно-алгоритмический комплекс защиты и управления предприятием // Программные продукты и системы. – 2017. – Т. 30. – №. 2.

143. Troup, G. M. Process systems engineering tools in the pharmaceutical industry / G. M. Troup, C. Georgakis // Computers & Chemical Engineering. – 2013. – Vol. 51. – P. 157-171.

144. Бирюков, В. В. Основы промышленной биотехнологии: учебное пособие для студентов высших учебных заведений. – «КолосС» «Химия», 2004.

145. Кольшкин, В. М. Апоптоз клеток в культуре: особенности проявления и влияние на эффективность биотехнологического производства / В. М. Кольшкин, В. Т. Ночевный, А. С. Новохатский // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. – №. 6. – С. 99-105.

146. Институт цитологии РАН : [сайт]. – URL : <https://www.incras.ru/> (дата обращения: 15.10.2020). – Текст : электронный.

147. de Paulo Farias, D. et al. Prebiotics: Trends in food, health and technological applications // Trends in food science & technology. – 2019. – Vol. 93. – P. 23-35.

148. FuGENE® HD Protocol Database : [сайт]. – URL : <https://www.promega.com/techserv/tools/FugeneHdTool/default.aspx> (дата обращения: 15.10.2020). – Текст : электронный.

149. Abcam : [сайт]. – URL : [https://www.abcam.com/human-hif-1-alpha-elisa-kit-ab171577.html#description\\_protocols](https://www.abcam.com/human-hif-1-alpha-elisa-kit-ab171577.html#description_protocols) (дата обращения: 15.10.2020). – Текст : электронный.

150. Möhler, L. Segregated mathematical model for growth of anchorage-dependent MDCK cells in microcarrier culture / L. Möhler, A. Bock, U. Reichl // *Biotechnology progress*. – 2008. – Vol. 24. – №. 1. – P. 110-119.

151. Пат. 2612154 Российская Федерация, МПК C12N 5/071 (2010.01). Способ культивирования адгезионных клеток / Кальвоза Эрик (FR), Севе Николя (FR); заявитель и патентообладатель САНОФИ ПАСТЕР (FR). – №2012130928; заявл. 27.01.2014; опубл. 02.03.2017, Бюл. №7. – 34 с.

152. Grein, T. A. et al. Aeration and shear stress are critical process parameters for the production of oncolytic measles virus // *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. – 2019. – Vol. 7. – P. 78.

**Приложение 1. Свидетельства о государственной регистрации программ для ЭВМ и баз данных. Акт апробации информационной системы**

**РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ**



**СВИДЕТЕЛЬСТВО**

о государственной регистрации базы данных

**№ 2017621237**

**База данных «Система культивирования клеток  
млекопитающих»**

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева» (РХТУ им. Д. И. Менделеева) (RU)*

Авторы: *Гусева Елена Владимировна (RU), Батыргазиева Диана Рафаэльевна (RU), Меньшутина Наталья Васильевна (RU)*

Заявка № **2017620981**

Дата поступления **07 сентября 2017 г.**

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных **25 октября 2017 г.**

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

*Г.П. Ивлиев* Г.П. Ивлиев



## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2018619417

**Информационная система в области культивирования  
клеток млекопитающих**

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» (РХТУ им. Д.И. Менделеева) (RU)*

Авторы: *Батыргазиева Диана Рафаэльевна (RU), Гусева Елена Владимировна (RU), Меньшутина Наталья Васильевна (RU)*

Заявка № 2018616647

Дата поступления 27 июня 2018 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ 06 августа 2018 г.



Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

*Г.П. Ивлиев* Г.П. Ивлиев

## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2020620462

## Сетевая база данных «Исследования эффективности пребиотиков»

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» (РХТУ им. Д.И. Менделеева) (RU)*

Авторы: *Гусева Елена Владимировна (RU), Батыргазиева Диана Рафаэльевна (RU), Меньшиутина Наталья Васильевна (RU), Архипова Олеся Олеговна (RU), Кареткин Борис Алексеевич (RU), Панфилов Виктор Иванович (RU)*

Заявка № 2020620077

Дата поступления 23 января 2020 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре баз данных 12 марта 2020 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

 Г.П. Ивлиев



## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2021612452

**Программный модуль для прогнозирования процесса  
роста клеток млекопитающих на микроносителе**

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Российский химико-технологический университет имени  
Д.И. Менделеева» (РХТУ им. Д.И. Менделеева) (RU)*

Авторы: *Меньшутина Наталья Васильевна (RU), Иванов  
Святослав Игоревич (RU), Батыргазиева Диана Рафаэльевна  
(RU), Гусева Елена Владимировна (RU)*

Заявка № 2021611630

Дата поступления 10 февраля 2021 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ 17 февраля 2021 г.



Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

Юр. адрес: 125212, г. Москва,  
 Головинское шоссе, 8, корп. 2А, офис 26  
 Почтовый адрес: 117312, г. Москва,  
 ул. Ферсмана, 5А  
 info@cell-systems.ru  
 Тел.: (495) 718-17-00  
 ОГРН 1127746102989  
 ИНН/КПП 7743844254/ 774301001

**ООО**  
**«Клеточные Системы»**

Исх. №1210-08  
 от 12.10.2020 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор  
 ООО «Клеточные Системы»



Михайловская

12 октября 2020 г.

**АКТ**

апробации информационной системы

Разработанная авторами Д.Р. Батыргазиевой, Е.В. Гусевой, Н.В. Меньшугиной информационная система в области культивирования клеток млекопитающих успешно прошла испытания в ООО «Клеточные Системы».

В ходе апробации разработанная информационная система была использована для быстрого и удобного поиска информации, а также принятия решений по подбору системы культивирования клеток млекопитающих.

Информационная система на основе базы данных «Система культивирования клеток млекопитающих», реализованная в пакете прикладных программ Microsoft Visual Studio 2015 ОС Windows 10, позволила значительно сократить время результативного подбора условий проведения процесса культивирования клеток млекопитающих на основе экспериментальных данных, экспертных оценок и справочной информации.

Предложенная информационная система в области культивирования клеток млекопитающих представляет коммерческий интерес для ООО «Клеточные Системы» и может быть использована в научно-исследовательских целях.

Заместитель Генерального директора  
 ООО «Клеточные Системы»

О.Е. Басова

Начальник отдела обеспечения  
 производства  
 ООО «Клеточные Системы»

И.А. Воронов