



Эффективность и простота получения противовирусных вакцин

Большие объемы при использовании одноразовых биореакторов с неподвижным слоем



Потребности в вакцинах для человека, а также в ветеринарных вакцинах увеличиваются по мере роста населения во всем мире, а также вследствие повышения мировых стандартов жизни. Эти тенденции сопряжены с трудностями, связанными с объемами изготовления. Каким образом можно упростить традиционные подходы к организации технологического процесса, чтобы повысить эффективность, увеличить объемы и добиться более высокой рентабельности производства?

Биореактор iCELLis 500 с неподвижным слоем для одноразового применения, имеющий более компактные размеры (включая блок управления и баки заполнения), для изготовления вирусных вакцин, вирусных векторов и рекомбинантных белков

Вольфганг Винкум,

старший менеджер по региональному маркетингу, Pall Life Sciences
wolfgang_weinkum@pall.com
www.pall.com/upstream

Обычно вакцина основана на агенте, который является аналогичным патогенному микроорганизму, например, вакцина с вирусами, ослабленными в своей вирулентности, либо инактивированная вирусная вакцина, токсичный ингредиент или поверхностный белок патогена. В глобальной перспективе большинство лицензированных вакцин получают из вирусных вакцин со сниженной вирулентностью или из инактивированных вирусных вакцин. Такие вакцины в основном создаются с использованием адгезивных клеток млекопитающих, клеток фибробласта эмбриона цыпленка (ФЭЦ), клеток эпителия почек собак (КМДПС), клеток МРЦ-5 фибробластов легких человека и клеток Веро (почечных клеток зеленых мартышек). Разработчики вакцин ставят перед собой задачу вызвать иммунную реакцию, которая действует в качестве первой линии защиты от распространения патогена.

В статье приведен обзор процесса получения вирусных вакцин с использованием культур из клеток млекопитающих.

Традиционные двухмерные системы

Для более полного понимания процесса получения вирусных вакцин необходимо учесть опыт двух прошедших веков. Исследование вирусов первоначально проводилось в чашках Петри или в колбах Ру. По мере роста потребности в вирусах увеличивалось количество чашек и колб, пока инновационные разработки чашек Петри не привели к появлению Т-колб (колб для тканевых культур) и клеточных фабрик или клеточных реакторов, а также к переходу от колб Ру к использованию роллерных флаконов.

С тех пор традиционные стратегии выращивания адгезивных клеток, требующего прилипания к твердой основе, основывались на двухмерных (2D) системах, которые можно

было быстро и легко собирать даже при ограниченном специфическом опыте. Все указанные средства изготавливаются из пластика, преимущественно полистирола (ПС) и полиэтилена терефталата (ПЭТ). Их использование является достаточно простым, поэтому в применении сложного процесса нет необходимости.

Увеличение масштаба таких 2D-систем, которое связано с их возрастающим количеством, происходит только линейным способом. Требуется большее количество входных материалов, большее пространство, кроме того, существует риск контаминации из-за множества «открытых» этапов процесса. Такой подход, будучи управляемым на протяжении длительного времени, использовался при изготовлении больших объемов вакцин.

Однако в 70-х годах прошлого столетия потребности в вакцинах, включая вакцины для человека от полиомиелита и ветеринарные вакцины от заболеваний лап и пасти, увеличивались столь значительными темпами, что многие производства достигали пределов своих мощностей. Наряду с новыми нормативными требованиями и возрастающим ценовым давлением открылась перспектива для использования инновационных технологий, с помощью которых процесс производства стал бы более надежным и эффективным.

Инновационные трехмерные системы

Разработка инновационных подходов первоначально основывалась на использовании биореакторов с большими

емкостями для перемешивания, которые уже успешно эксплуатировались для ферментации бактерий и взвешенных клеточных культур. Идея заключалась в использовании таких биореакторов в сочетании с микроносителями, которые могли бы работать в качестве масштабируемого субстрата большого размера для адгезивных клеток. Из-за очень большого соотношения площади поверхности (микроносителя) и объема (биореактора) такие трехмерные системы (3D) сводят к минимуму количество этапов, используемых в ручном режиме, снижают необходимость в пространстве и сокращают риск контаминации.

В то же время эти культуры являются привлекательным решением для масштабирования процесса. Их используют во многих крупномасштабных технических процессах, например, с микроносителями SoloHill® производства компании Pall, которые стерилизуют с помощью гамма-излучения. Однако пользователи, имеющие ограниченный опыт в обращении с микроносителями, жалуются на достаточно высокую трудоемкость при разработке процесса.

Микроносители необходимо постоянно держать во взвешенном состоянии для обеспечения равномерного распределения доступной поверхности внутри биореактора. Кроме того, микроносители и клетки должны находиться в контакте друг с другом на протяжении достаточно продолжительного времени, чтобы адгезия происходила надлежащим образом.

При этом микроносители с механическими свойствами гидрогеля

Таблица. Биореакторы iCELLis с неподвижным слоем для одноразового применения для разработки процесса и полномасштабного изготовления

	Биореактор		Неподвижный слой		Поверхность	
	Объем (л)	Диаметр (мм)	Высота (мм)	Объем (л)	Низкое уплотнение (м ²)	Высокое уплотнение (м ²)
iCELLis nano	1	110	20	0.04	0.53	0.8
	1	110	40	0.08	1.06	1.6
	1	110	100	0.2	2.6	4
iCELLis 500	70	860	20	5	66	100
	70	860	40	10	133	200
	70	860	100	25	333	500

являются хрупкими и чувствительными к высоким усилиям сдвига, поэтому скорость перемешивания – это уязвимый параметр, который необходимо тщательно оптимизировать во время разработки процесса. Какие еще существуют решения для удовлетворения возрастающей потребности в вакцинах?

Биореакторы с неподвижным слоем для одноразового применения

Эффективное и экономичное увеличение объемов изготовления вакцин, содержащих культуры адгезивных клеток, повышение трудоемкости и рост профессионализма с сохранением требований, предъявляемых к небольшому пространству, также возможно за счет использования подходящих биореакторов с неподвижным слоем. Масштабируемый биореактор iCELLis® с неподвижным слоем для одноразового применения является именно такой инновационной технологией с неподвижным слоем с зафиксированными микроносителями для изготовления вирусных вакцин, вирусных векторов и рекомбинантных белков.

Система представлена в двух масштабируемых размерах: нанобиореактор iCELLis для разработки процесса и биореактор iCELLis 500 для крупномасштабного изготовления (таблица). Биореакторы, которые значительно отличаются от прочих платформ, представленных на рынке, имеют поверхность для выращивания до 500 м² с объемом неподвижного слоя всего 25 л. Это соответствует показателям производительности почти 3000 роллерных флаконов на поверхности 1700 см² (рис. 1).

Работа биореакторов iCELLis в значительной степени отличается от такой традиционных платформ для процессов с использованием культур адгезивных клеток, включая 2D- и 3D-технологии, описанные выше. Питательная среда для выращивания

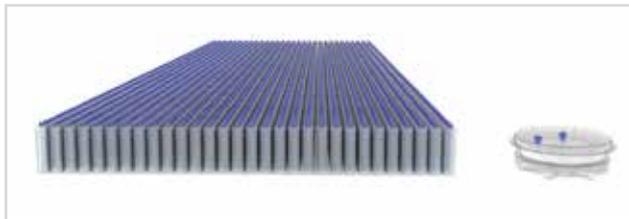


Рис. 1. Увеличение масштаба при изготовлении вакцин – сравнение традиционных подходов (роллерные флаконы) с инновационными процессами (биореактор iCELLis с неподвижным слоем для одноразового применения)

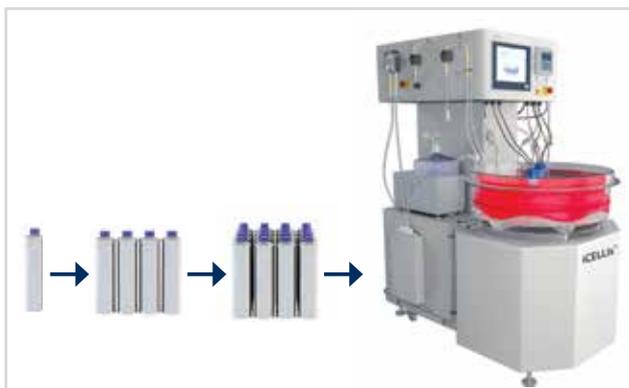


Рис. 2. Упрощение процесса засева биореактора iCELLis с неподвижным слоем для одноразового применения культурой с очень низкой плотностью клеток (без промежуточного по масштабу upstream биореактора)

клеточной культуры двигается по внутренней части неподвижного слоя из полиэфирной пленки, на которой микроносители из гидрофильного ПЭТ неподвижно закреплены по направлению вверх, а затем попадает на внешнюю сторону неподвижного слоя снизу. Система «падающей пленки» обеспечивает эффективное обогащение кислородом (оксигенацию) и отгонку углекислого газа, делая возможным получение наивысших значений K_L при использовании такого подхода.

Биомассу можно увеличить до 500 раз за один этап, так что биореактор может быть засеян культурой с очень низкой плотностью клеток (рис. 2). Использовать биореактор меньшего размера нет необходимости. В отличие от традиционных систем с роллерными флаконами про-

цесс можно полностью контролировать. С биореактором с неподвижным слоем могут успешно работать один или два пользователя.

Сбор клеток затем можно напрямую проводить через глубокий фильтр Seitz®

V100P в качестве специально подобранного решения для биофармацевтического получения вирусов. Глубина фильтрующего картона пригодна для эффективного, надежного и экономичного отделения клеток и клеточного детрита, при этом она характеризуется способностью удерживать загрязнения с высоким выходом вируса.

Увеличение масштаба нанобиореактора iCELLis до биореактора iCELLis 500 выполняется в соответствии с базовыми принципами, известными из хроматографического процесса. Диаметр неподвижного слоя увеличивается, а линейная скорость среды клеточной

структуры и высота неподвижного слоя остаются неизменными.

Резюме

Все возрастающая потребность в вакцинах во всем мире требует инновационных решений процессов их получения. Новый биореактор iCELLis с неподвижным слоем для одноразового применения способен отвечать на повышенные требования, предъявляемые к объемам. Кроме того, его использование сокращает производственные затраты. Биореактор iCELLis позволяет оптимизировать выращивание адгезивных клеток в промышленных масштабах и является контролируемой, экономичной и быстрой альтернативой традиционным двумерным (2D) процессам. Благодаря компактному исполнению системы значительное расширение имеющейся инфраструктуры для увеличения мощности не требуется. Малые трудозатраты на использование, обучение и обслуживание в перспективе позволят значительно снизить затраты. ■