



Использование акустической волновой сепарации для оптимизации процесса осветления клеточных культур

Акустическая волновая сепарация (Acoustic Wave Separation, AWS) – это метод, позволяющий проводить непрерывное отделение клеток и осветление культуральной жидкости из биореакторов. Данный метод, обеспечивающий первичную очистку культуральной жидкости в непрерывном режиме, может быть реализован в формате одноразового использования и масштабирован до промышленного уровня с сохранением параметров качества продукта. Использование технологии AWS способствует экономии времени и материалов, поскольку позволяет сократить объемы используемых при осветлении буферов, уменьшить время, необходимое для сборки системы осветляющего фильтрования, а также повысить производительность и эффективность процесса благода-

ря более длительному времени функционирования по сравнению с осветляющим фильтрованием.

Биофармацевтическая промышленность претерпевает серьезные изменения. Производителям необходимо повышать эффективность производства, что обусловлено растущим спросом на новые, целенаправленно действующие высококачественные биопрепараты, производство которых должно осуществляться с наименьшим количеством затрат. Компания Pall Life Sciences разрабатывает системы непрерывного действия в формате одноразового использования для реализации полного цикла производства биотехнологических препаратов.

Непрерывная модель производства продемонстрировала значительные преимущества во многих



Рис. 1. Акустический сепаратор Cadence™ для непрерывного отделения клеток и очистки биотехнологических жидкостей после разгрузки биореактора

отраслях промышленности: от экономии капитальных и эксплуатационных затрат за счет повышения рентабельности до улучшения качества и однородности продукции. Обычно биофармацевтические препараты производят определенными производственными партиями, полупродукт проходит серию операций, каждая из которых завершается промежуточным хранением, что требует использования дополнительных емкостей или биоконтейнеров. Несмотря на то, что данный подход способствует использованию производственного оборудования с максимальной мощностью, тем не менее зачастую он приводит к дополнительным затратам, связанным с расходом материалов на этапах подготовки и очистки оборудования, и в итоге является менее выгодным.

Следует отметить, что неопределенность нормативной базы в отношении непрерывного биотехнологического

производства больше не является препятствием. Так, например, FDA открыто поддержало непрерывное производство биопрепаратов. На протяжении нескольких последних лет регуляторные органы прямо указывают на потенциал такого способа организации производства в отношении сокращения времени от разработки лекарственных средств до их выпуска на рынок, а также на перспективу реализации инициатив FDA в области обеспечения качества. Это подтверждается действующими в настоящее время определениями таких терминов как, например, «серия или партия, используемые для непрерывного производства». В этом контексте стоит отметить, что растущее внедрение инициатив по качеству через дизайн (QBD), включая определение критических качественных признаков (Critical Quality Attributes – CQAs), может способствовать переходу к непрерывному производству на очень ранней стадии разработки.

Системный подход к организации непрерывного биотехнологического производства позволяет соединить воедино технологические процессы, которые ранее проводились как отдельные производственные стадии. При этом сокращается время технологического простоя между производственными стадиями. В целом процесс становится более эффективным, компактным и экологичным по сравнению с постадийной производственной схемой. Как результат – уменьшаются первоначальные капитальные вложения и эксплуатационные расходы. Увеличенная продолжительность рабочего цикла позволяет произвести большее количество продукта с использованием меньшего количества оборудования и материалов. Более высокая степень автоматизации в непрерывном производстве по сравнению с постадийным способствует оптимизации управления технологическими процессами, более стабильному качеству продукции, сокращению времени простоя и сведению к минимуму вмешательств со стороны персонала. При этом время, необходимое для разработки непрерывной технологии производства, может быть короче, чем для стандартных постадийных процессов.

Решения компании Pall Life Sciences предназначены для непрерывного производства биотехнологических АФС как на начальных, так и на завершающих этапах биотехнологического процесса и позволяют производителям биопрепаратов, контрактным исследовательским организациям (CRO) и контрактным производителям (CMO) в полной мере реализовать и использовать преимущества непрерывного способа производства.

Производство биотехнологических препаратов

Процесс биотехнологического производства начинается в биореакторе, где происходит биосинтез целевого продукта клеточной культурой. Для производства моноклональных антител используют главным образом клетки млекопитающих, наиболее часто – клетки яичника китайского хомячка (CHO). Кроме того, также могут быть использованы клеточные линии человека, насекомых и микробов.

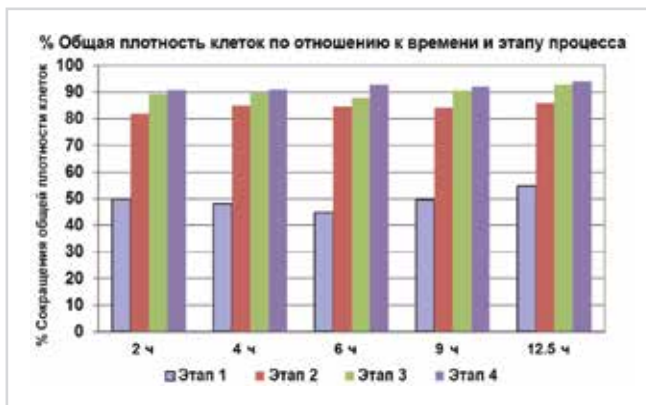


Рис. 2. Надежность работы акустического сепаратора Cadence™ (с четырьмя камерами). Система находилась в эксплуатации 13,5 ч с целью продемонстрировать ее способность к непрерывной работе

Поскольку большинство upstream-процессов основано на технологии культивирования с подпиткой (Fed-batch), описанные ниже технологии для очистки и выделения продукта предназначены для очистки полученных таким образом партий культуральной жидкости.

Разделение клеток

До начала фактической очистки и выделения целевого продукта необходимо удалить из полупродукта, полученного на этапе культивирования, механические примеси, такие как клетки и клеточный дебрис. В соответствии с традиционными способами жидкость центрифугируют и / или используют крупнопористый фильтр глубинного типа в целях уменьшения мутности и удерживания значительной части твердых частиц. Затем эту жидкость подвергают воздействию тонкопористого фильтра глубинного типа, чтобы достичь желаемой степени осветления полупродукта. Центрифуги нуждаются в больших ускорениях, которые могут повредить клетки. Также фильтры не всегда справляются с высоким клеточным титром, который обеспечивают современные биопроцессы. К этому следует добавить время простоя, в течение которого необходимо промыть или заменить фильтр.

Основываясь на принципе разделения с помощью акустических волн, акустический сепаратор Cadence™ (CAS) в последнее время является альтернативой для очистки биотехнологических жидкостей без стадии центрифугирования (рис. 1). По сравнению с крупнопористым фильтром глубинного типа система позволяет сократить около 75 % необходимой площади фильтра, что обуславливает значительную экономию средств. Кроме того, может быть уменьшен требуемый объем резервуара, а также площадь помещения. Процесс также отличается высокой воспроизводимостью, что способствует достижению равномерности профилей чистоты жидкости клеточной культуры (рис. 2). Метод уже доказал свою эффективность в разделении для различных биологических препаратов, в том числе рекомбинантных терапевтических белков и моноклональных антител, и

совершенно не зависит от концентрации твердых веществ, плотности клеток, мутности и доли живых клеток.

После создания трехмерной звуковой волны культуральная жидкость разделяется на два противоположных потока. Клетки, которые оказались в ловушке в узлах акустической волны, накапливаются, формируя достаточно крупные агломераты, и оседают под действием силы тяжести. Осветленную таким образом жидкость затем очищают через тонкопористый фильтр глубинного типа. Благодаря этому качество продукта аналогично получаемому путем центрифугирования с последующей двукратной глубинной фильтрацией. Затем проводят стерилизующую фильтрацию и подготовку к последующей хроматографической очистке.

Важно! Разделение с помощью акустических волн проходит как непрерывный процесс в замкнутой системе, и в случае значительного повышения температуры может повлиять на качество белка. Технология AWS также обеспечивает высокую производительность с предсказуемыми и воспроизводимыми профилями чистоты в широком диапазоне плотностей клеток как на этапе разработки процесса, так и в промышленных масштабах производства. Площадь поверхности фильтра, который используют после стадии культивирования, может быть сокращена в 3 – 10 раз за счет внедрения предварительной стадии очистки с помощью установки Cadence™. Это оказывает положительное влияние на стоимость процесса, а также уменьшает объемы необходимых емкостей и занимаемую площадь.

В настоящее время акустический сепаратор Cadence™ доступен в формате пилотной системы для разработки и оптимизации процессов. Система состоит из двух-четырех акустических сепарационных камер и обычно работает со скоростью подачи культуральной жидкости 3,6 л в 1 ч. Акустические камеры соединены последовательно с целью повышения эффективности разделения.

Акустический сепаратор Cadence™ является альтернативой для отделения клеток из культуральной жидкости после процессов культивирования с подпиткой с высокой плотностью клеток CHO. Это надежное устройство, обеспечивающее стабильно высокую производительность с воспроизводимой эффективностью в широком диапазоне плотностей клеток, предназначенное как для разработки процессов, так и для создания клинических серий препаратов. ▣



PALL Life Sciences

www.pall.com/continuous

Контактное лицо:

Вольфганг Вайнкум,
старший менеджер
по отраслевому маркетингу
wolfgang_weinkum@pall.com