

Системы одноразового применения в производстве биопрепаратов: Quo Vadis?

Системы одноразового применения – Single-use systems (SUS) – в настоящее время широко используются в процессах производства биопрепаратов, в том числе для получения культур животных клеток. Одноразовые фильтры, пластиковые резервуары, одноразовые смесители и биореакторы для первичной обработки – это наиболее часто используемые виды оборудования в производстве препаратов для доклинических и клинических испытаний. В то же время биофармацевтическая промышленность расширяет использование SUS в процессах вторичной обработки, приготовления лекарственных форм и наполнения. На сегодняшний день одним из приоритетных направлений развития отрасли является использование биореакторов с мешалкой одноразового применения для обработки микроорганизмов. Кроме того, существует потребность в одноразовом оборудовании для производства стволовых клеток и Т-лимфоцитов

Данный отчет о тенденциях в области применения систем одноразового использования был подготовлен Regine Eibl и Dieter Eibl, Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Departement N, от имени рабочей группы DECHEMA «Одноразовые технологии в биофармацевтическом производстве» к выставке AICHEM.

Системы одноразового применения предназначены для однократного использования. Все элементы, контактирующие с продуктом, изготовлены из таких полимерных материалов, использование которых одобрено Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration – FDA), как полиэтилен или поликарбонат. Производитель, как правило, стерилизует оборудование с помощью бета- или гамма-излучения, то есть оно поставляется в готовом к использованию виде. Масштаб применения SUS в биофармацевтической промышленности значительно возрос в последние 15 лет, в частности, для всех процессов обработки культур животных клеток, где есть необходимость в быстрой разработке и эффективном производстве малых и средних объемов продуктов, таких как лекарственные препараты на основе моноклональных антител, гормонов, ферментов и вакцин. С большой долей

вероятности можно предположить, что системы одноразового применения в настоящее время используются в разработке $\frac{2}{3}$ новых технологических решений для осуществления подобных процессов.

Такую тенденцию можно объяснить повышением титров продуктов (и следующим из этого уменьшением размеров промышленных биореакторов до 1 или 2 м³), а также наличием у SUS преимуществ в сравнении с оборудованием многократного использования, изготовленным из стекла или стали. Кроме более высокой производительности (отсутствие стадии стерилизации и процедур очистки), доводами в пользу использования SUS являются универсальность (более быстрая переналадка на производство другого продукта) и безопасность (минимальный риск перекрестной контаминации). Использование систем одноразового применения позволяет также уменьшить размер начальных инвестиций в производственную систему примерно на 40 %, а установка, испытание и запуск эксплуатации оборудования занимают меньше времени.

Оборудование одноразового применения широко используется в производстве доклинических и клинических образцов, но менее распространено в промышленном выпуске биопрепаратов. Причиной такого положения дел являются ограничения в использовании SUS,

представленных на рынке в настоящее время.

Выщелачиваемые и экстрагируемые вещества – недостатки систем одноразового применения

Выщелачиваемые и экстрагируемые вещества – это химические соединения, которые перемещаются из полимерных материалов в продукт под воздействием технологических параметров или в «наихудшем случае» разрушают продукт. Нехватка методик проведения стандартизованных тестов для определения выщелачиваемых и экстрагируемых веществ наряду с отсутствием соответствующих аналитических листов – это самое слабое место SUS. Ситуация не изменилась и с разработкой методики определения бис (2,4-ди-трет-бутилфенил) фосфата как цитотоксического выщелачиваемого вещества для различных клеточных линий яичников китайского хомячка.

Результаты исследований, проведенных командой специалистов компании Amgen под руководством Мэтью Хаммонда (Matthew Hammond), тем не менее, ускорили разработку более надежных полимеров с оптимальными свойствами (например, полимеры Aegis 5-14 производства компании ThermoFisher Scientific или Flexsafe – компании Sartorius Stedim Biotech), из которых можно изготавливать контейнеры для хранения, смесители и биореакторы. В результате недавно проведенных исследований, опирающихся на рекомендации немецкого Общества Химической техники и Биотехнологии DECHEMA, установлено, что риск подавления роста клеток при использовании полимера Flexsafe S80 можно исключить в случаях, когда концентрация антиоксиданта Irgafos 168 минимальна, и эти данные применимы не только к клеткам яичника китайского хомячка.

Кроме общества DECHEMA, разрабатывающего рекомендации и руководства для стандартизации си-

стем одноразового применения для немецкоязычного региона на основании деятельности своей рабочей группы, занимающейся технологиями SUS в биофармацевтической промышленности (Single-Use Technology in Biopharmaceutical Production Working Group), данную тему изучают также организации, перечень которых приведен на рис. 1. Рассматривается не только проблема выщелачиваемых и экстрагируемых веществ, но и вопросы, касающиеся герметичности, квалификации поставщиков, взаимозаменяемости материалов и компонентов, а также характеристик процессов, происходящих в биореакторах однократного применения.

Технологические платформы одноразового применения, комплексные линии для первичной обработки одноразового применения и промышленные предприятия, изначально оснащенные оборудованием одноразового применения

ASME	Американское общество инженеров-механиков	www.asme.org
ASTM	Американское общество по испытанию материалов	www.astm.org
BPOG	Оперативная группа bioforum	www.biophorum.com
BPSA	Альянс Bio-process systems alliance	www.bpsalliance.org
DECHEMA	Общество Химической техники и Биотехнологии	www.dechema.de
ELSIE	Ассоциация обмена информацией о безопасности экстрагируемых и выщелачиваемых веществ	www.elsiedata.org
ISPE	Международное общество фармацевтического инжиниринга	www.ispe.org
PDA	Ассоциация производителей парентеральных препаратов	www.pda.org

Рис. 1. Организации, поддерживающие внедрение систем одноразового применения

Однако, если правильно выбрать оборудование и рационально его использовать, то преимущества систем одноразового применения перевешивают упомянутые выше недостатки. В настоящее время существуют SUS для всех стадий процесса первичной и вторичной обработки. В наличии имеется даже

оборудование одноразового применения, пригодное для процессов приготовления лекарственных форм и наполнения (смесители, системы транспортировки, дозирующие системы, иглы для наполнения и др.). Промышленные предприятия, полностью оснащенные оборудованием одноразового



Рис. 2. Системы одноразового применения для первичной обработки производства компании Sartorius Stedim Biotech AG

Таблица. Перечень имеющихся в продаже оснащенных измерительной аппаратурой биореакторов одноразового применения (в масштабах литров)

Тип реактора	Название реактора	Рабочий объем, л	Успешно использовался ¹ для культивирования	Компания-производитель
Механический привод, волновой принцип действия	AppliFlex	0,5 – 25	Культуры животных и растительных клеток, водорослей ²	Applikon
	CELL-tainer (20 л, 200 л)	0,015 – 150	Микроорганизмы	Cell tainer Biotech
		0,015 – 200	Культуры животных клеток	
	CellTumbler (различные модели Systems 50)	0,5 – 10	Культуры животных клеток	CerCell
	SmartRocker Bioreactor	0,5 – 25	Культуры животных и растительных клеток	Finesse
	Wave Bioreactor System (System 20 / 50 и System 500 / 1000)	0,2 – 500	Культуры животных и растительных клеток	GE Healthcare
	ReadyToProcess WAVE25	0,2 – 25		
	Биореактор Xuri Cellbag (System W5 и W25)	0,2 – 25	Человеческие клетки (например, соматические и стволовые клетки)	
	Allegro XRS 20	0,1 – 20	Культуры животных клеток, микроорганизмы и Т-лимфоциты	Pall Life Sciences
Биореактор BIOSTAT RM (System 20 / 50 и System 200)	0,1 – 100	Культуры животных и растительных клеток, водоросли ² и микроорганизмы	Sartorius Stedim Biotech	
Механический привод, смеситель, жесткий резервуар	Серии CellVessel 21 и 23	0,250 – 75	Культуры животных клеток	CerCell
	CellVessel серии 21 и 23	0,25 – 1		
	VactoVessel серия 25	2 – 75	Микроорганизмы	
	Настольный реактор с мешалкой CelliGen BLU (BioBLU 1 с, 5 с, 14 с, 50 с)	0,25 – 40	Культуры животных и человеческих клеток (стволовые клетки)	Eppendorf
	Настольный реактор с мешалкой CelliGen BLU (BioBLU 1 f)	0,25 – 1,25	Микроорганизмы	
	DASGIP Parallel Bioreactor (BioBlock с BioBLU 1 с)	0,25 – 1,25	Культуры животных и человеческих клеток (стволовые клетки)	
	DASGIP Parallel Bioreactor (BioBlock с BioBLU 1 f)		Микроорганизмы	
	Биореактор Mobius CellReady 3 л	1 – 2,4	Культуры животных и человеческих клеток (стволовые клетки)	Merck Millipore
	UniVessel SU	0,6 – 2	Культуры животных и растительных клеток, человеческие клетки (стволовые клетки) и микроорганизмы	Sartorius Stedim Biotech
	Биореактор одноразового применения SmartVessel3	0,5 – 2,2	Культуры животных и растительных клеток	Finesse
Механический привод, смеситель, пластиковая емкость	Xcellerex XDR (10 л, 50 л, 200 л, 500 л, 1000 л, 2000 л)	4,5 – 2000	Культуры животных клеток	GE Healthcare
	Xcellerex XDR-50 MO Fermentor	10 – 50	Микроорганизмы	
	Mobius CellReady (50 л, 200 л, 1000 л ³ , 2000 л ³)	10 – 20003	Культуры животных клеток	Merck Millipore
	Allegro STR (200 л, 1000 л ³ , 2000 л ³)	60 – 20003	Культуры животных клеток	Pall Life Sciences
	PadReactor (25 л, 50 л, 125 л, 250 л, 600 л, 1200 л) ^{4,5}	8 – 960	Культуры животных клеток	
	BIOSTAT STR (50 л, 200 л, 500 л, 1000 л, 2000 л ³)	12,5 – 20003	Культуры животных, человеческих клеток (стволовые клетки) и микроорганизмы	Sartorius Stedim Biotech
	HyPerforma S.U.B (50 л, 100 л, 250 л, 500 л, 1000 л, 2000 л)	25 – 2000	Культуры животных и растительных клеток	ThermoScientific
	HyPerforma S.U.F (30 л, 300 л)	6 – 300	Микроорганизмы	

Таблица (окончание). Перечень имеющихся в продаже оснащенных измерительной аппаратурой биореакторов одноразового применения (в масштабах литров)

Тип реактора	Название реактора	Рабочий объем, л	Успешно использовался ¹ для культивирования	Компания-производитель
Механический привод, орбитальное встряхивание	Биореактор OrbShake (SB-10X, SB-50X, SB-200X, SB-2500X)	1 – 2500	Культуры животных и растительных клеток, микроорганизмы	Adolf Kühner
	Current Bioreactor (5 л, 50 л, 150 л, 300 л)	0,5 – 300	Культуры животных клеток	Hangzhou Amprotein Bioengineering
Механический привод, вращение	Биореактор Vertical Wheel MagDrive (PBS3MAG, PBS15 MAG)	1,8 – 15	Культуры человеческих клеток (стволовые клетки)	PBS Biotech
Пневматический привод	CElIMaker Felix3	n.a.	Культуры животных клеток	Cellexus
	CElIMaker Regular и CElIMaker Plus (8 л, 50 л)	1 – 50	Микроорганизмы и водоросли	
	Биореактор Vertical Wheel AirDrive (PBS 3 Air, PBS 15 AIR, PBS 80 AIR, PBS 500 AIR)	0,6 – 500	Культуры животных клеток	PBS Biotech
Гидравлический привод, волоконный биореактор	Quantum Cell Expansion	Абсолютная площадь поверхности культуры клеток: 2,1 м ²	Культуры прилипающих животных клеток и человеческие клетки (стволовые клетки и Т-лимфоциты)	Terumo BCT
Гидравлический привод, плоско-параллельный биореактор	Биореактор Xpansion Multiplate (10 – 200 пластин)	Абсолютная площадь поверхности культуры клеток 0,06 – 12,2 м ²	Культуры животных и человеческих клеток (стволовые клетки)	Pall Life Sciences
Гидравлический привод, реактор с неподвижным слоем	Биореактор с неподвижным слоем Celligen BLU (5 л, BioBLU 5p) ⁶	3,758	Культуры прилипающих животных клеток и человеческие клетки (стволовые клетки)	Eppendorf
	iCELLis7 (нано, 500)	0,04 – 258	Культуры животных и человеческих клеток (стволовые клетки)	Pall Life Sciences

n.a. – нет данных; ¹ – имеются указания по применению и / или документы; ² – модель с LED-подсветкой; ³ – заявленная модель; ⁴ – кубическая пластиковая емкость; ⁵ – лопастная мешалка; ⁶ – носитель Fibracel; ⁷ – полиэфирные микроволокна; ⁸ – рабочий объем неподвижного слоя.

применения, такие как WuXi PharmaTech в Шанхае, тем не менее, все еще являются исключением (их около 10 %). Преобладают гибридные производственные предприятия (около 75 %). Фильтры, пластиковые резервуары, смесители и биореакторы одноразового применения используются в сочетании с оборудованием из нержавеющей стали. На таких предприятиях широко распространены технологические платформы (например, для производства сред, ферментации, разделения биомассы, разделения вирусов и инактивации, приготовления лекарственных форм и наполнения), разработанные **лидерами рынка в производстве SUS (компании GE Healthcare, Pall Life Sciences,**

Merck MilliPore, Sartorius Stedim Biotech и ThermoScientific).

То обстоятельство, что данная область применения, несмотря на прогресс в разработке SUS для вторичной обработки, является узким местом для производства оборудования объемом более 500 л (существуют ограничения для одноразовых центрифуг, одноразовых хроматографов со смолой на основе белка А, нехватка датчиков), объясняет тенденцию к использованию производственных мощностей для первичной обработки, полностью оборудованных системами одноразового применения (рис. 2). Ярким примером такого подхода является предприятие компании Shire, оснащенное биореактором

объемом 2000 л, которое расположено в Лексингтоне (Массачусетс). Велаглуцераза альфа для лечения болезни Гоше, одобренная Европейским агентством по лекарственным средствам (EMA) и FDA, является первым биофармацевтическим средством, выпускаемым в промышленных масштабах. Препарат произведен на предприятии, которое оборудовано линией для первичной обработки, полностью укомплектованной системами одноразового применения. Тем не менее без масштабируемой технологии одноразового применения и соответствующего вспомогательного оборудования подобный тип производственных мощностей не сможет существовать.

Новое поколение биореакторов одноразового применения

В таблице приведен список имеющихся в продаже промышленных биореакторов одноразового применения в диапазоне от настольного оборудования до масштабов, измеряемых в кубических метрах. Данный список не является исчерпывающим. В нем не представлены автоматизированные мини-биореакторы одноразового применения для культивирования в масштабах миллилитров, такие как ambr15 и ambr250 (компания Sartorius Stedim Biotech, ранее называвшаяся TAP Systems), системы BioBLU 0.3 (компания Eppendorf), биореактор Pall Micro-24 (компания Pall Life Sciences), BioLector (компания mp2-labs), серия биореакторов H ZRP производства компании Zellwerk и мини-биореакторы MagDrive – компании PBS Biotech. Биореакторы одноразового применения, используемые в тканевой инженерии, также не включены в таблицу.

Перечислены биореакторы различных производителей. Их можно сортировать по механизму подачи энергии, размеру, конструкционному материалу резервуара для культивирования, типу датчиков и контроллеров. Оборудование подходит для получения как суспензионных культур, так и прилипающих клеток. Биореакторы одноразового применения с механическим или пневматическим приводом можно использовать для производства суспензионных культур. В то же время прилипающие клетки культивируют на микроносителях в тех же биореакторах одноразового применения, во вращающихся биореакторах с механическим приводом, в одноразовых волоконных биореакторах с гидравлическим приводом или в плоскопараллельных биореакторах и биореакторах неподвижного слоя.

Большинство пользователей предпочитают одноразовые биореакторы с мешалкой или волновые биореакторы с механическим приводом. Волновые биореакторы (за небольшим исключением) используются главным образом для выращивания клеток, в то время как реакции обычно про-

водят в биореакторах с мешалкой. Для того чтобы упростить обработку и расширить сферу применения оборудования за пределы получения культур животных клеток, в последние 3 года было модернизировано большое количество волновых реакторов и реакторов с мешалкой одноразового применения (см. таблицу стр. 82). Стоит упомянуть разработку реакторов с мешалкой одноразового применения для обработки микроорганизмов. В целях гарантирования оптимальной обработки данных и мониторинга процесса были доработаны и модернизированы датчики, контроллеры и программное обеспечение для мониторинга и контроля, используемые в биореакторах одноразового применения. Работы по усовершенствованию биореакторов одноразового применения продолжаются, произошла значительная реорганизация (слияние компаний), например, компании Xcellerex / GE Healthcare, Eppendorf / New Brunswick / DASGIP и ATMI / Pall Life Sciences, в связи с чем изменились названия биореакторов.

Недавно были представлены несколько новых биореакторов одноразового применения (за исключением двух, STR 200 от компании Pall Allegro и Vertical Wheel MagDrive производства компании PBS Biotech).

Большое количество разработчиков и контрактных производителей считают тангенциальную поточную фильтрацию эффективным инструментом для преодоления ограничений, связанного с возрастающей объемной производительностью (выход продукта за один проход в единицу времени) биореакторов одноразового применения, используемых для культивации животных клеток и для решения проблемы ограниченной масштабируемости. Они используют биореакторы с мешалками и волновые биореакторы одноразового применения в сочетании с системами фильтрации с поперечным потоком, такими как многоуровневый блок с перпендикулярным потоком производства компании Refine (биотехнологическое подразделение компании Refine в на-

стоящее время входит в корпорацию Repligen) или системы с волоконными модулями одноразового применения других производителей (например, компании GE Healthcare, Spectrum Laboratories). При помощи таких конфигураций оборудования производители могут осуществлять непрерывную перфузию, повторяющийся процесс с добавлением субстрата, процесс с добавлением концентрированного субстрата и концентрированную перфузию, осуществляемые с использованием нового периферийного оборудования одноразового применения, такого как соединительные элементы, мембранные клапаны и насосы (рис. 3).

Новые технологические решения для вторичной обработки: очистка, выделение, осветление

В то же время высокая плотность клеток (приблизительно 108 в 1 мл) и десятикратное повышение титра продукта обуславливают возрастающую потребность в процессах вторичной обработки. Такая потребность открывает перспективы в разработке инновационных технологических решений для вторичной обработки, при помощи которых можно минимизировать стоимость. Модули одноразового применения для фильтрации с добавлением фильтровальных веществ, такие как FILTROX FILTRODISC BIO SD, можно использовать для эффективной очистки культуральной жидкости в промышленных масштабах, и они являются обоснованной альтернативой центрифугам одноразового применения. Компания 3M использовала стадии очистки в качестве стартовой точки для разработки гибридной установки очистки 3M Emphaze AEX Hybrid Purifier (многофункциональная установка для очистки одноразового применения) в целях уменьшения количества контаминантов, которые необходимо удалить на дорогостоящей стадии вторичной очистки, осуществляемой с помощью хроматографического метода.

Некоторые компании уже используют непрерывные процессы вторичной обработки. Компания ASI недавно представила теплообменник одноразового примене-



Рис. 3. Насос одноразового применения PuraLev производства компании Levitronix AG с контроллером

ния для этих целей. В дополнение к полностью автоматизированным блокам фильтрации с тангенциальным потоком ведущие производители систем одноразового применения предлагают модули фильтрации с тангенциальным потоком для диафильтрации и для фильтрации вирусов, а также хроматографические системы одноразового применения и мембранные адсорберы различного размера. В то же время некоторые производители биофармацевтических препаратов и контрактные производители предпочитают предварительно упакованные хроматографические системы одноразового применения, которые можно использовать многократно. Приведем несколько примеров: колонки Repligen Open Platform Specified (OPUS) поставляются в предварительно упакованном виде с полимером. Их используют для очистки культуральной жидкости в биореакторах одноразового применения объемом 1 – 2 м³. Компания BIA Separations

поставляет хроматографические колонки, изготовленные из монокристаллических материалов.

Резюме

Системы одноразового применения – это общепризнанная во всех сферах биофармацевтической промышленности, связанной с обработкой культур животных клеток, технология. Исследователи прилагают совместные усилия для преодоления существующих ограничений (стандартизация, усовершенствование датчиков, разработка улучшенных решений для автоматизации и хроматографирования при помощи оборудования одноразового применения в крупномасштабном производстве). Анализ рынка показывает, что масштаб внедрения SUS будет продолжать возрастать в течение продолжительного времени по меньшей мере на 15 % в год. Также ожидается более широкое использование одноразового оборудования в промышленном производстве и

в процессах обработки микроорганизмов. Помимо внедрения новых конструкций гибких модульных установок для производства биотерапевтических препаратов и биоаналогов, на существующих предприятиях происходит замена многократного оборудования системами одноразового применения.

Учитывая повышение эффективности применения клеточных, генных и иммунотерапевтических препаратов, ожидается более высокий спрос на оборудование одноразового применения для производства стволовых клеток и Т-лимфоцитов (выращивание, дифференциация, сбор и очистка клеток). На данный момент отсутствуют сведения относительно использования оборудования одноразового применения, разработанного для перманентных клеточных линий, а также для индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, чувствительных к усилению сдвига. ▣