

Оптимизация процессов производства биоаналогов моноклональных антител с применением одноразовых микробиореакторов

В настоящее время одной из наиболее быстро развивающихся отраслей биофармацевтической промышленности является производство биоаналогов моноклональных антител. В отличие от разработки оригинальных препаратов на основе моноклональных антител создание биоаналогов требует значительно меньше вложений, а потенциальный рынок сбыта будущего препарата может быть оценен до начала его разработки. Тем не менее себестоимость моноклональных антител велика сама по себе, а разработка процесса их создания занимает значительное время, что побуждает производителей искать методы оптимизации таких процессов и производства. Одним из наиболее результативных способов повышения экономической эффективности производства моноклональных антител является оптимизация культуры и условий культивирования (например, сред, параметров культивирования и реакторов).

Традиционно развитие процесса культивирования начинается со скрининга клонов с целью поиска наиболее стабильных и продуктивных клонов. Процесс проводят в небольших объемах (от 0,1 до 6 мл), и поскольку требуется проведение большого числа экспериментов на настольных биореакторах, разработаны и широко используются микробиореакторы с качающейся платформой, например, на 96 ячеек или чаще на 24 ячейки 7. Биореакторы с качающейся платформой на 24 ячейки, включая Micro-24 (Pall) и Micro-Matrix (Applikon), не позволяют в полной мере имитировать процесс перемешивания в биореакторе классического типа с барботером, в результате чего становится невозможным прямое масштабирование результатов, полученных с их использованием, для сосудов большего объема. Кроме того, максимальный рабочий объем таких биореакторов составляет 7 мл, что ограничивает количественные возможности аналитического тестирования, особенно если необходимо провести несколько образцов за один прогон. Другой системой, часто применяемой при первичном скрининге клонов, являются модифицированные центрифужные пробирки емкостью 50 мл (TubeSpin). Тем не менее, подобно микропланшетам, они обеспечивают лишь очень ограниченные возможности контроля pH и доставки кислорода (DO). Отметим, что условия среды перемешивания отличаются от таковых, существующих в биореакторе, и кроме того, при работе с ними невозможно проводить коррекцию состава среды и отбор проб «на ходу», в результате чего сам процесс обработки пробирок может влиять на процесс культивирования.

Дальнейшую оптимизацию процесса традиционно проводят в биореакторах объемом 1 – 5 л. Это позволяет, с одной стороны, использовать несколько реакторов для параллельного культивирования, а с другой – безболезненно масштабировать процесс до достижения объема 10 – 50 л (в целях проведения доклинических исследований) и дальнейшего масштабирования до объема 200 л (для получения пилотных партий). Однако даже при объеме 1 л логистические затраты материалов и времени на обслуживание и эксплуатацию реакторов являются значительным лимитирующим фактором. В результате исследователи вынуждены делать выбор: исследовать большое количество клонов и параметров культивирования в условиях, не соответствующих промышленному производству, и, возможно, столкнуться с тем, что некоторые обнаруженные закономерности не «работают» в большом масштабе, или исследовать малое количество вариантов в репрезентативных системах, рискуя пропустить оптимальный вариант.

Чтобы удовлетворить потребность в выборе модели биореактора, обеспечивающей репрезентативные системы перемешивания, подачи газов и отбора образцов и пригодной для использования вместо моделей микропланшетов, встряхиваемых колб, качающихся пробирок и биореакторов большего объема, предложены передовые микро- и мини-системы биореакторов ambr® 15 и ambr® 250 производства компании Sartorius Stedim Biotech. Обе системы имеют три компонента: биореактор одноразового использования, автоматизированное рабочее место и программное обеспечение. Ключевым фактором эффективности этих систем в качестве аналогов биореакторов является то, что механизмы перемешивания и подачи газов полностью аналогичны таковым больших биореакторов, а также то, что культуральные сосуды являются полностью одноразовыми.

Каждая рабочая станция устанавливается внутри ламинарного шкафа класса биологической безопасности «для работы в стерильных условиях» и обеспечивает независимое параллельное управление 12, 24 или 48 биореакторами. Рабочая станция управляет скоростью перемешивания, подачей газа и поддержанием температуры, а также выполняет функции автоматизации обработки жидкостей для биореакторов, в каждом из которых можно поддерживать собственные условия среды, подачи корма, инокуляции и получения образцов. Каждый биореактор также оборудован датчиками для измерения в режиме реального времени и автоматизированного управления параметрами DO и pH, их

настройки также можно подобрать отдельно для конкретного биореактора. Значение pH регулируется подачей CO₂ и путем добавления жидких реагентов, в то время как DO регулируется путем изменения объема подаваемого воздуха и обогащения его чистым кислородом. Система позволяет производить автоматический отбор проб в различные емкости, в том числе в чашки для образцов Vi-CELL или в планшеты на 24 и 96 ячеек.

Обе автоматизированные мини-системы биореакторов снабжены программным обеспечением, в котором для определения эксплуатационных параметров (значения pH / DO или скорость перемешивания), а также порядок таких действий, как инокуляция, добавление среды и извлечение образцов, используется список операций, составленный пользователем. Они также имеют встроенное программное обеспечение BioPAT® MODDE производства компании Umetrics, предназначенное для разработки проекта проведения экспериментов (DoE). Это позволяет внедрить DoE в производственный процесс для упрощения его оптимизации и расширения масштаба до более крупных одноразовых разведочных биореакторов BioStat® и промышленных биореакторов.

Данные в реальном времени, такие как объемы культуры и значения DO / pH, регистрируются непрерывно, а внешние аналитические показатели (титры или количество клеток) могут быть импортированы в программное обеспечение DoE. Это позволяет определять критические параметры процесса, оптимизировать биотехнологические условия и выбирать надежное пространство проектных параметров. Сочетание высокой пропускной способности биореакторов и интегрированного программного обеспечения DoE обеспечивает прорывной и очень мощный инструмент для разработки биоаналогов и программ обеспечения качества через разработку (QBD).

Биореактор ambr® 15 предназначен для скрининга и отбора клонов, а также ранних этапов процесса разработки, в то время как ambr® 250 в первую очередь используют для оптимизации процесса и расширения масштабов производства клеточной культуры и микробной ферментации.

Краткое описание различных особенностей обеих систем приведено в таблице, а два различных биореактора одноразового использования для каждой системы представлены на рис. 1.

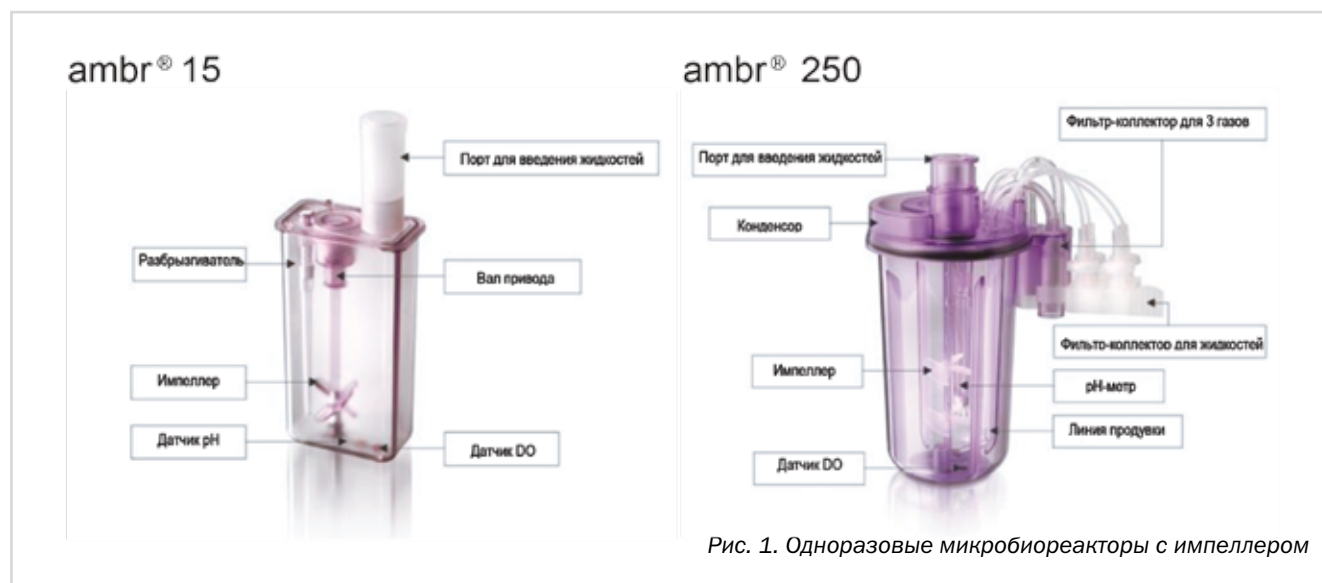


Рис. 1. Одноразовые микробиореакторы с импеллером

Таблица. Особенности двух различных мини-моделей автоматизированных биореакторов		
Характеристика	ambr® 15	ambr® 250
Рабочий объем биореактора	10 – 15 мл	100 – 250 мл
Количество сосудов на систему	24 или 48	12 или 24
Основные контролируемые параметры рабочей станции для каждого одноразового биореактора	pH, DO, подача газа, добавление жидкостей, отбор образцов	pH, DO, скорость перемешивания, подача газа, температура, добавление жидкостей, получение образцов
Тип подачи	Струйно с помощью пипетки	Непрерывно с помощью четырех поршневых насосов на биореактор и струйно с помощью пипетки
Диапазон pH	6,5 – 7,5	2,0 – 8,5
Возможности подачи газа	В свободное пространство или путем разбрызгивания	В свободное пространство и (или) путем разбрызгивания

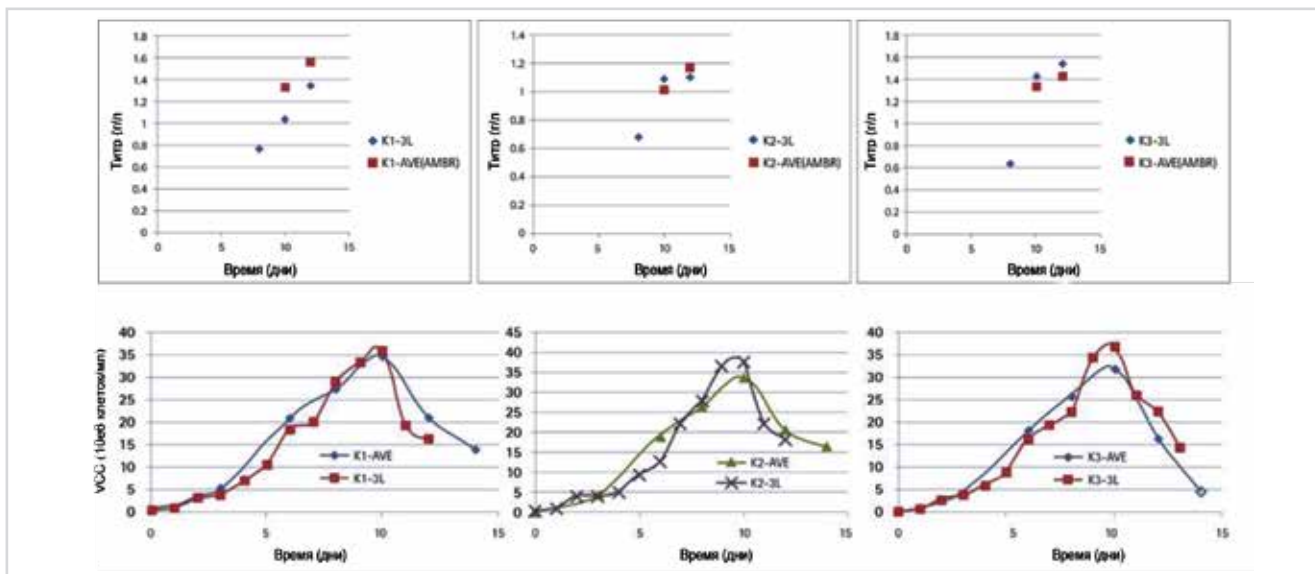


Рис. 2. Сравнение профилей роста и экспрессии белка у трех клонов клеток CHO, культивируемых в ambr® 15 и в стеклянном биореакторе емкостью 3 л

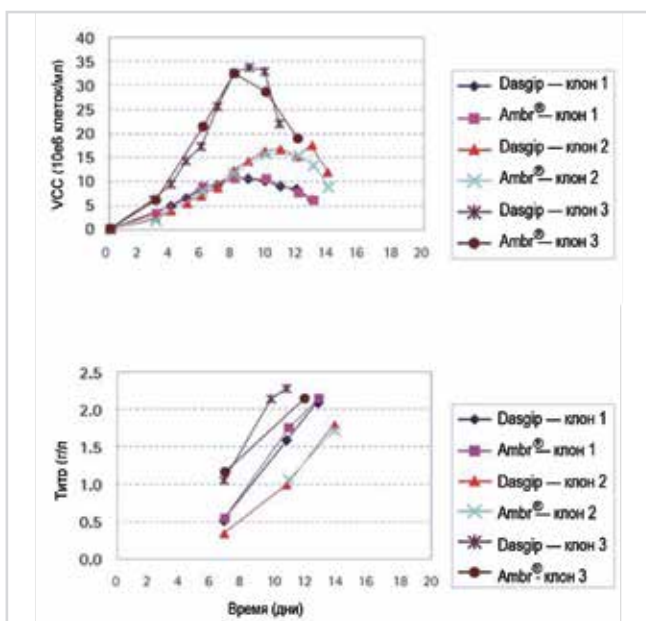


Рис. 3. Сравнение профилей роста и экспрессии белка у трех клонов клеток CHO, культивируемых в ambr® 15 и в стеклянном биореакторе емкостью 1 л

Появившись несколько лет назад на рынке, в настоящее время эти реакторы широко используются в

процессе разработки клеточных линий, особенно хорошо проявляя себя в условиях дефицита времени. Так, специалисты компании Wuxi AppTec провели сравнительное исследование культуральных характеристик (рис. 2) и продуктивности (рис. 3) клеточных линий. В результате сравнения данных было установлено, что различия между традиционными стеклянными реакторами и одноразовыми микрореакторами незначительны и укладываются в пределы статистического разброса. В то же время продуктивность исследовательского процесса при использовании одноразовых микрореакторов оказалась несравненно выше (рис. 4). Даже с учетом дополнительной проверки результатов исследований на стеклянном реакторе общее время исследований сократилось почти в три раза при полном сохранении воспроизводимости результатов. При этом трудозатраты сотрудников сократились практически в два раза – с 2 – 3 (полностью занятых) сотрудников до 1 – 1,5 FTE.

Таким образом, использование одноразовых микробиореакторов позволяет не только существенно уменьшить габариты исследовательских систем, затраты на материалы и трудозатраты, но и провести большее число экспериментов, что способствует повышению эффективности процесса оптимизации. ■



Контактная информация:
 ООО «Сарториус Стедим РУС» |
 ООО «Сарториус РУС»
 Тел./факс: +7 (812) 327-53-27.
 russia@sartorius.com, www.sartorius.ru

Рис. 4. Разработка процесса с использованием автоматизированных микро- и мини-биореакторов