

Pharma·TEC

Forschung · Technik · Praxis

Magazin
Online
Events
Services

Nr. 3 · Juni 2011 · 18. Jhg.
www.process.de

Spartenausgabe von

PRO·CESS

Probennahmesysteme

So schließen Sie
Qualitätslücken

Raps oder Isolator?

Unsere Tipps helfen
bei der Auswahl

Ablufferhitzersystem

Gehen Sie auf
Nummer sicher

Effiziente Zellkultivierung

Flexibles Einwegsystem



Effiziente Zellkultivierung: Schneller, flexibler – Einweg!

Neuer Einweg-Bioreaktor für die Prozessentwicklung

Nicht nur in der Produktion können Biotechnologen mittlerweile zwischen Einweg- und Mehrweg-Fermentern wählen. Auch in der Prozessentwicklung spielen Einwegsysteme jetzt ihre Vorteile wie geringere Kosten und schnellere Einsatzzeiten aus.

ANDRE GREBE UND JÖRG WEYAND

Bei der Herstellung biopharmazeutischer Produkte wie monoklonaler Antikörper, Enzyme oder Impfstoffe wird in Bioreaktoren der zentrale Prozessschritt durchgeführt. In einem Bioreaktor werden Zellen monoseptisch unter möglichst optimalen kontrollierten Bedingungen (Temperatur, pH-Wert, Gelöstsauerstoffkonzentration (pO_2) und Nährmedienbestandteile) kultiviert.

So genannte Rührreaktoren sind die am meisten verwendeten Bioreaktoren. Traditionell werden sie im kleineren Maßstab aus Glas (150 mL bis 10 L Arbeitsvolumen) und im größeren Maßstab (zehn bis mehrere 10 000 L) aus Edelstahl hergestellt. Seit Mitte der 90er Jahre werden vom Labor- bis zum Produktionsmaßstab vermehrt Einwegbioreaktoren für die Kultivierung von Säugerzellen eingesetzt. Die Vorteile von Einwegsystemen liegen auf der Hand: leichte Handhabbarkeit, Entfall der Sterilisations- und Reinigungszeiten. Speziell im GMP-Bereich ist auch die Vermeidung von Kreuzkontaminationen sowie der kostenintensiven Reinigungsvalidierung von Vorteil. Als erste instrumentierte Einwegbioreaktor-Systeme haben sich zweidimensionale Bioreaktorbeutel (2D) etabliert (z.B. Biostat Cultibag RM von Sartorius Stedim Biotech). Bei diesen Systemen bewegt sich eine Schaukelplattform vor und zurück und erzeugt damit im Bioreaktorbeutel eine welleninduzierte Flüssigkeitsdurchmischung.

A. Grebe ist Produktmanager und J. Weyand ist Applikationsspezialist bei Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen
Tel. +49 (0)5 51 / 3 08 - 0



Bilder: Sartorius Stedim Biotech

Bauartbedingt ist das Arbeitsvolumen auf maximal einige hundert Liter beschränkt. Die große Nachfrage nach Einweg-Rührreaktoren hat verschiedene Hersteller veranlasst, entsprechende Systeme wie z.B. den Biostat Cultibag STR zu entwickeln. Bei diesen Systemen werden dreidimensionale (3D) Rührreaktorbeutel verwendet. Ein Beutelcontainer aus Edelstahl gewährleistet dabei nicht nur die Stabilität sondern dient auch zur Temperierung. Erhältlich sind Systeme mit Arbeitsvolumina von 50 L bis maximal 2000 L. Idea-

lerweise entsprechen diese 3D-Rührreaktorbeutel in den wesentlichen Designkriterien dem klassischen Edelstahlreaktor. Darüber hinaus ist es sinnvoll, diese 3D-Rührreaktorbeutel mit Einweg-Sensoren für die pH- und pO_2 -Messung auszustatten – nur so können alle Vorteile des Einwegsystems voll ausgeschöpft werden.

Einwegrührreaktoren

Die neueste Entwicklung von Einweg-Rührreaktoren sind Gefäße im Prozessentwick-

Online • Mehr Informationen über Einweg- oder Mehrwegsysteme finden Sie auf process.de über InfoClick 2544077.

Events • Sartorius Stedim Biotech präsentiert den Univessel SU u.a. auf der Biotechnica in Hannover vom 11. bis 13.10.2011.

lungsmaßstab als Alternative zu den klassischen Glasbioreaktoren. Diese Gefäßkategorie wird in der biopharmazeutischen Industrie hauptsächlich zur Zelllinien-, Prozessentwicklung und -optimierung, sowie für Up- und Down-Scale-Experimente eingesetzt. Daher ist es besonders wichtig, dass diese Gefäße sowohl im Mehrweg als auch Einweg den Designkriterien der Produktionsrührreaktoren entsprechen. Als besonders geeignet und leistungsfähig haben sich Rührreaktoren mit einem Arbeitsvolumen von 2 L erwiesen. Diese bieten vergleichbare Reaktorgeometrien wie die Produktionsgefäße, sie haben ein kostengünstiges, jedoch ausreichendes Volumen, um Proben für Analysen nehmen zu können, und sind darüber hinaus gut zu handhaben. Die Vorteile, die Einwegkulturgefäße in diesem Größen-Maßstab bieten, sind enorm. Zusätzlich zu den schon genannten Kriterien entfallen das Handling zum Autoklavieren der relativ schweren Glasgefäße sowie die Kosten für deren Wartung und Instandhaltung. Der neue Univessel SU von Sartorius Stedim Biotech ist der erste Single-Use-Rührreaktor, der den Designkriterien von klassischen Glas- und Produktionsrührreaktoren entspricht. Der Kulturgefäßkörper besteht aus Polycarbonat und enthält eine Graduierung. Der Gefäßboden entspricht dem Klöpperbodendesign von Edelstahlrührreaktoren. Für den sicheren Stand während des Betriebes wird der Univessel SU in einen Gefäßhalter eingesetzt. Alle Gefäßzugänge sind, ähnlich wie bei Glasrührreaktoren, auf dem Deckel des Kulturgefäßes positioniert. Der Deckel ist fest mit dem Gefäßkörper verbunden und mit einer Vielzahl von Ports ausgestattet. Alle Zugabe- und Ernteports sind mit thermoplastischen Schläuchen und Luer-MPC-Kuppelungen ausgestattet. Für die Probenahme ist ein nadelfreies Septum installiert. Die Vollentleerung erfolgt über ein Ernterohr, das bis zur Mitte des Kulturgefäßbodens geführt ist. Die Belüftung kann submers und/oder über den Kopfraum erfolgen, sowohl Zuluftstrecke als auch Abluftstrecke sind mit Sterilfiltern ausgestattet. Die Submersbegasung erfolgt

NACHGEFRAGT

Wer Einweg einsetzt, gewinnt Zeit

In der Prozessentwicklung und -optimierung von Zellkultursystemen können Einweg-Bioreaktorsysteme ihre Stärken ausspielen, betonen Sabrina Armgart und Andre Grebe, beide Produktmanager Fermentation bei Sartorius Stedim Biotech.

? *Gibt es für den Einweg-Bioreaktor Univessel SU die klassische Anwendung? Adressieren Sie spezielle Applikationen?*

SABRINA ARMGART: Wir sprechen in erster Linie Anwender aus dem Bereich der Zellkulturentwicklung an und hier ganz speziell aus der Prozessentwicklung. Gerade hier spielen Einwegsysteme ihre Stärken wie geringen Reinigungsaufwand oder schnelle Inbetriebnahme aus. Bei den Applikationen haben wir aber auch ein System für die mikrobielle Fermentation in der Planung, um einen noch größeren Anwenderkreis zu bedienen.



Sabrina Armgart,
Sartorius Stedim
Biotech

? *Sind mikrobielle Fermentationsprozesse in der Umsetzung schwieriger?*

ANDRE GREBE: Eigentlich stellen sie weniger komplexe applikative Anforderungen. Sie benötigen allerdings deutlich höhere Begasungsraten und höhere Rührergeschwindigkeiten. Wir entwickeln momentan Lösungen, die es ermöglichen, die Rührergeschwindigkeiten von derzeit 700 U/min auf 2000 U/min zu erhöhen.



Andre Grebe,
Sartorius Stedim
Biotech

? *Muss sich der Anwender für ein Einweg- oder Mehrwegsystem entscheiden oder kann er sogar wechseln?*

ARMGART: Ihm bleiben beide Optionen: Er muss sich nicht auf eine Lösung festlegen. Die Einweg-Kulturgefäße können auch im wechselseitigen Einsatz mit Glasgefäßen eingesetzt werden, sodass z.B. in Zeiten stark erhöhter Arbeitsbelastung oder wenn ein Kulturgefäß gewartet wird, einfach gewechselt werden kann. So werden Stillstandzeiten der Bioreaktorsteuerung reduziert bzw. eliminiert und die kostenintensive Beschaffung von zusätzlichen komplett ausgestatteten Glas-Bioreaktorgefäßen vermieden.

? *Wieviel Zeit spart man durch den Einsatz des Univessels?*

GREBE: Wenn man für die Inbetriebnahme eines Standardglasreaktors inkl. Reinigung, Sterilisation und Kalibrierung der Sonden und dem Ansetzen der Kultur ein Zeitbudget von rund sieben Stunden einplanen muss, dann benötigt man beim Univessel SU nur rund ein bis drei Stunden – je nachdem, ob Sensoren kalibriert werden müssen oder die optische Messmethode verwendet wird. Egal für welche Messmethode sich der Anwender entscheidet, der Zeitgewinn ist signifikant.

? *Warum können neben den optischen Einwegsensoren auch klassische Sensoren verwendet werden?*

ARMGART: Ähnlich wie bei den Controllern und Rührerantrieben wollen wir es dem Anwender ermöglichen, auch bei den Messsystemen auf gewohntes Equipment zurückzugreifen. Daneben ist die erforderliche Messgenauigkeit des pH-Wertes durch die Sensorpatches auf den pH-Bereich zwischen 6 und 8 beschränkt. Dies ist für den Bereich der Zellkultivierung jedoch absolut ausreichend und bringt weiteren Zeitgewinn.

über ein Begasungsrohr mit kleinen Löchern. Darüber hinaus sind drei Ports mit Gewinde (PG 13.5) für die Integration von Standard-12-mm-Sonden vorhanden. Die Rührwelle ist für höchste Stabilität mit zwei Kugellagern gela-

gert und mit einer Lippendichtung zur Aufrechterhaltung der Sterilität versehen. Zwei 3-Blattsegmentrührer (Down-Flow) sorgen für eine optimale axiale Durchmischung des Zellkulturmediums.

Vergleich von Multi-Use- und Single-Use-Bioreaktoren

	2L-Multi-Use- Glasreaktor*	UniVessel SU 2L	500L-Multi-Use-Edelstahlbioreaktor	CultiBag STR 200L
Rührreaktordesign / Prozessparameter				
Arbeitsvolumen [L]	2	2	500	200
Rührerdrehzahl [1/min]	200	212	65	100
Begasungsrate [vvm]	0,1	0,1	0,16	0,1
Höhen/Durchmesserverhältnis	1,5 : 1	1,4 : 1	1,1 : 1	1,3 : 1
Rührerdesign	3-Blatt-Segmentrührer	3-Blatt-Segmentrührer	Lightnin A320 (3-Blatt-Segmentrührer)	3-Blatt-Segmentrührer
Anzahl der Rührer	1	2	1	2
Design Begasungsorgan	Rohr mit Löchern	Rohr mit Löchern	2-Linien Offenes Rohr & Begasungsfritte	Begasungsring
Verfahrenstechnische Kenngrößen				
Mischzeit [s]	20	< 7	48	16
Spezifischer Leistungseintrag [W/m ³]	2,8	1,4	13,6	17,5
kLa [1/h]	10	7	8	6

* Daten aus A-Mab: A Case Study in Bioprocess Development; CMC Biotech Working Group

Der Univessel SU ist zusätzlich mit nicht-invasiven optischen Einweg-Sonden für pH und pO₂ ausgestattet. Diese so genannten Sensorpatches enthalten spezielle Farbstoffe, die mit Licht charakteristischer Wellenlänge durch die Kulturgefäßwandung zur Fluoreszenz angeregt werden. Die Eigenschaften des von den Sensorpatches emittierten längerwelligen Fluoreszenzlichtes hängen von dem pH-Wert bzw. dem pO₂-Wert, des mit den Sensorpatches in Kontakt stehenden Kulturmediums ab (s. Abb. 3).

Up-Scale und Vergleichbarkeit

Up- und Down-Scale von Fermentationsprozessen ist eine Kombination aus Erfahrung sowie der Verwendung gleicher Prozessparameter und Designkriterien.

Die wichtigsten Skalierungs-Kriterien sind das Bioreaktordesign sowie die verfahrenstechnischen Kenngrößen wie Mischverhalten

und Gastransfer. Designkriterien sind im Wesentlichen das Höhen-/Durchmesser-Verhältnis des Bioreaktors, das Rührerdesign, das Verhältnis vom Rührer- zum Bioreaktordurchmesser sowie die Ausführung des Begasungselements.

Für das Mischverhalten werden Mischzeiten sowie der spezifische Leistungseintrag betrachtet, für den Gastransfer ist der volumetrische O₂-Transferkoeffizient maßgeblich (s. Tab.).

Der Univessel SU lässt sich einfach in neue sowie bereits vorhandene Bioreaktor-Kontrolleinheiten integrieren. Hierzu ist es lediglich erforderlich, dass zur Temperaturregelung eine Heizmanschette verwendet wird. Der Anschluss an den vorhandenen Rührmotor erfolgt über einen wiederverwendbaren Motoradapter, dabei sind mehrere Adapter für verschiedene Rührreaktoren verfügbar. Die vorsterilisierten pH- und pO₂-Sonden

werden unter der Sterilarbeitsbank in den Gefäßdeckel eingeschraubt. Der Temperatursensor wird einfach in das am Gefäßdeckel vorhandene Leerrohr eingesteckt. Für das Bioreaktorsystem Biostat B-DCU II ist die Nutzung der Einweg-pH- und -pO₂-Sonden möglich. Die Kalibrierparameter der vorkalibrierten Sensorpatches können zeitsparend über einen Barcodescanner eingelesen werden, womit alle Vorteile des Einweggefäßes genutzt werden können.

Der Univessel SU kann bereits heute flexibel an bestehende Bioreaktor-Kontrolleinheiten angeschlossen werden. Weitere Kulturgefäßkomponenten wie ein Abluftkühler, andere Rührergeometrien, etc. sind in der Entwicklung, die künftig auch mikrobielle hochzelldichte Kultivierungen mit instrumentierten Einwegkulturgefäßen erlauben. Darüber hinaus wird die Produktfamilie Univessel SU durch weitere Gefäßgrößen ergänzt. ●



Abb. 2: Der Univessel SU ist ein neuer Einweg-Rührbioreaktor, der speziell für die Prozessentwicklung konzipiert wurde.

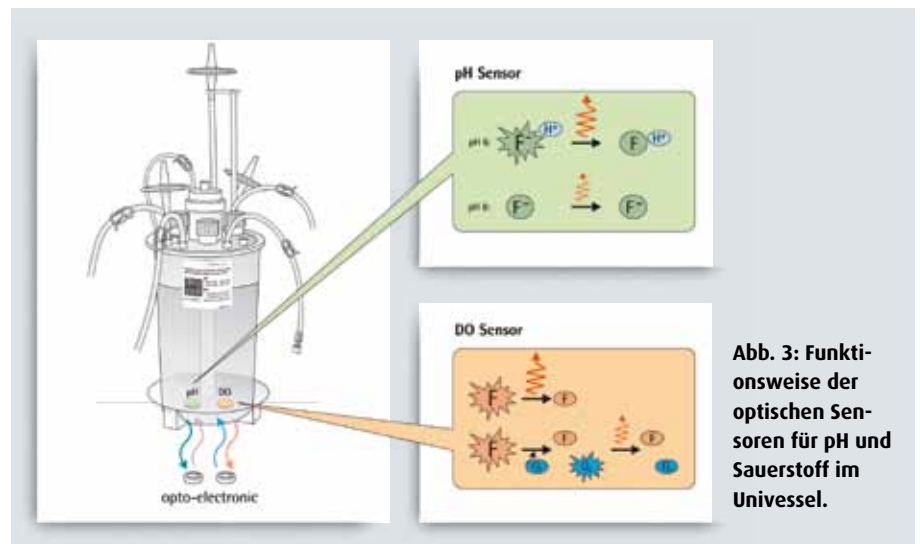


Abb. 3: Funktionsweise der optischen Sensoren für pH und Sauerstoff im Univessel.