

УДК 663.18; 573.6.086.835

## ОДНОРАЗОВА ФЕРМЕНТАЦІЙНА АПАРАТУРА



Ю. І. СИДОРОВ

Національний університет «Львівська політехніка»

E-mail: sydorowy@rambler.ru

Наведено відомості про інноваційний тип ферментаційної апаратури — одноразові пластикові ферментери, які використовують у біофармацевтичній промисловості, об'ємом від декількох см<sup>3</sup> до декількох м<sup>3</sup>. Пластикові мішки-ферментери постачають централізовано у стерильному вигляді, що усуває проблеми багаторазового миття і стерилізації апаратів на місці (CIP/SIP). Незважаючи на підвищення поточних витрат, пов'язаних із застосуванням достатньо дорогих пластикових ферментерів, капітальні вкладення в нові виробництва з новою апаратурою значно зменшуються, а отже, зменшуються й амортизаційні витрати та собівартість продукції, що дає значний економічний ефект. Розглянуто основні конструкції одноразової ферментаційної апаратури — від пластикових пробірок 24-Micro і Micro-Flask до промислових біореакторів з перемішуванням «хвилею» або за допомогою внутрішнього імпелера, який приводить у дію зовнішнє магнітне поле.

**Ключові слова:** одноразова ферментаційна апаратура, одноразові пластикові ферментери.

У 2007 р. один зі світових лідерів у галузі виробництва традиційної і одноразової ферментаційної апаратури (ОФА) німецька фірма Sartorius AG після об'єднання з французькою фірмою Stedim, яка спеціалізувалася на виробництві інших виробів одноразового використання (*disposable, single-use*), утворили альянс під назвою Sartorius-Stedim Biotech. Нова фірма з докризовим річним оборотом 660–680 млн. євро зі штатом понад 2 300 працівників стала лідером у виробництві ОФА для використання в біофармацевтичній промисловості [1]. Це поставило крапку в суперечці між прихильниками нових і традиційних видів ферментаційної апаратури, що їх застосовують у виробництві лікарських засобів.

На початку впровадження технологій із застосуванням ОФА виникав певний сумнів. З одного боку, використання пластикових мішків, які надходять на підприємство зі спеціальної фабрики у гарантовано стерильному вигляді, виключає процеси миття і стерилізації (*Cleaning in Place and Sterilizing in Place — CIP/SIP*), що спричиняють до 80% виробничих проблем, пов'язаних із проведенням ферментаційних процесів у стерильних умовах у разі використання тра-

диційних культиваторів. З іншого боку, мішки, як витратний матеріал, не є дешевими, тому економічна доцільність не була очевидною.

Однак досвід показав, що побоювання були марними. До цього висновку дійшли, зокрема, у британській фірмі Celliance Ltd., яка тривалий час працює на ринку виробництва моноклональних антитіл для діагностики з використанням 85 різних культур тваринних клітин [2]. Фірма досягла значної економії за рахунок скорочення часу підготовки ферментерів (у 4 рази), що дозволило збільшити кількість виробничих циклів на 25–40% (залежно від масштабу); повного виключення браку; можливості проведення ферментацій у звичайних, а не в чистих приміщеннях; скорочення часу проведення валідаційних робіт, не кажучи вже про економію мийних розчинів, чистої води тощо.

Навіть зовнішній вигляд ферментаційних відділень свідчить про їх спрощення завдяки використанню ОФА (рис. 1, 2).

Г. Сендстром, провідний інженер багатопрофільної транснаціональної компанії Fluor, наводить такі міркування зі власного досвіду: «Річні витрати на використання



Біореактор 1000 л, 1982 р.

Біореактор 1000 л, 1994 р.

ОФА Xcellerex XDR-1000, сьогодні

Рис. 1. Зовнішній вигляд ферментаційних відділень у різні роки [3]

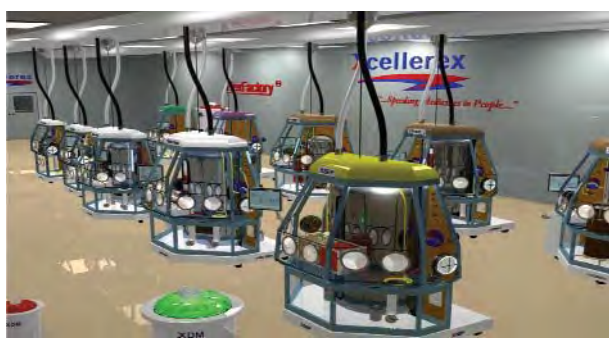


Рис. 2. Відділення з виробництва вакцин за технологією FlexFactory компанії Xcellerex [3]

одноразових мішків об'ємом 20 л становлять близько 20 тис. дол., у той час як для мобільних і фіксованих ємностей (традиційного типу — Авт.) вони дорівнюють близько 40 тис. дол. У разі використання 200-літрових мішків ці витрати майже не змінюються і становлять 21 тис. дол., тимчасом як для мобільних і фіксованих ємностей (відповідно 62 тис. дол. і 80 тис. дол.». Він вважає, що ОФА є найоптимальнішим рішенням у виробництві лікарської субстанції у незначних кількостях [3, 4].

Велике значення для формування суспільної думки щодо ефективності використання ОФА і одноразового обладнання мала публікація [5]. У цій статті на прикладі симуляційних модельних процесів одержання моноклональних антитіл у 2000-літровому ферментері традиційного типу і в одноразовому пластиковому ферментері було продемонстровано, що використання ОФА зумовлює зниження капіталоемності на 20%, що, у свою чергу, приводить до 8% -го зниження вартості товару.

Сьогодні мало хто має сумнів щодо доцільності використання ОФА, але іноді впровадження нових технологій на конкретних

підприємствах затримується внаслідок того, що капітали вже раніше були інвестовані в традиційне обладнання через побоювання залежності виробника від одного постачальника витратних матеріалів для ОФА, або через суто психологічні мотиви (If it isn't broken, why fix it? — Навіщо склеювати те, що не розбилось?).

На рис. 3 наочно показано переваги ОФА перед традиційними ферментерами з нержавіючої сталі.

Ще одна перевага ОФА — процес можна спостерігати візуально, контролюючи рівень піни, зміну кольору культуральної рідини, її каламутність тощо. Такий контроль не можна порівняти з візуалізацією процесу через оглядові вікна у сталевих біореакторах.

ОФА випускає не тільки фірма Sartorius-Stedim Biotech (об'єм від 1 до 1 000 л), але й інші компанії, зокрема АТМІ (від 50 до 1 000 л), GE Healthcare/Wave (від 1 до 1 000 л), Thermo Fisher HyClone (до 1000 л), Xcellerex (від 10 до 2 000 л) [6], а також Alfa-Laval (спільно з Fisher Scientific International Inc., HyNetics Corp. і HyClone), Applikon та ін. Деяку активність спостерігають і в Росії.

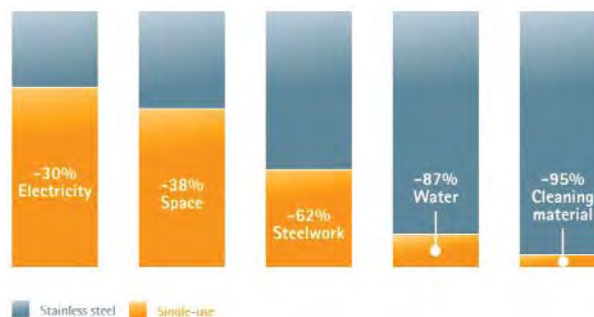


Рис. 3. Переваги ОФА у використанні електроенергії, виробничого об'єму, сталевих конструкцій, витрати води і мийних засобів [Sartorius-stedim.com, 2009]

Так, Московський державний університет у 2008 р. запросив взяти участь у розміщенні замовлень на постачання одноразових комплектів обладнання для культивування клітин тварин і мікроорганізмів, причому ємнісний ряд ферментерів становить від 2 до 50 л.

Проте ОФА мають і деякі недоліки. Так, зокрема встановлено, що швидкість росту деяких видів холестеролзалежних клітин (cholesterol-dependent cells), які іммобілізуються на пластику, знижується [7]. Окрім того, внаслідок проблем з перемішуванням і відведенням тепла максимально можливий об'єм ОФА на сьогодні — 2 000 літрів; має бути заплановано складське приміщення для зберігання одноразових мішків; недостатньо вивчена проблема вилуговання низькомолекулярних речовин з пластику.

Загалом ця практика довела придатність ОФА для більшості процесів ферментації, і високвалікованим робітникам більше не доводиться займатися прибиранням приміщень та очищенням обладнання.

Загальні відомості про ОФА наведено в статті А. Ю. Попова, представника компанії Sartorius-Stedim Biotech (ТОВ «Эй Пи Интернэйшнл») [8]. Ще раніше була публікація провідних фахівців Sartorius, в якій окреслено перспективи розвитку ОФА [9]. У пропонуваній читачеві статті подано новішу, докладнішу і більш ілюстровану інформацію, взятую з оригінальних каталогів компанії, з матеріалів конференції «Достижения науки и производственной практики», яку було організовано Російсько-Швейцарським учбово-науковим центром трансферу фармацевтичних і біотехнологій РХТУ ім. Менделєєва, що проходила 2–3 березня 2010 р. у Москві, та інших джерел. Мова йтиме тільки про власне ферментаційну апаратуру; інфраструктурна апаратура (одноразові рідинні і повітряні фільтри тощо) буде описана в наступній публікації.

Сьогодні найбільш мініатюрні ОФА 24-Micro і Micro-Flask об'ємом від 0,1 до 10 мл випускає фірма Applikon (рис. 4). Ці біореактори призначені для скринінгу і тестування мікроорганізмів і клітин.

Деяко більшими за об'ємом є одноразові мікробіореактори Cultiflask 50 фірми Sartorius-Stedim Biotech (рис. 5).

Мікробіореактор Cultiflask 50 призначений для культивування різноманітних мікроорганізмів, а також клітин рослин, тварин, у тому числі ссавців. Кожен Cultiflask 50 має кришку, що закручується. Газообмін



Рис. 4. Мікробіореактори компанії Applikon



Рис. 5. Мікробіореактор Cultiflask 50

відбувається через 5 отворів різного діаметра. Фторопластова мембрана, яка закриває ці отвори, слугує стерилізуючим бар'єром, запобігаючи потраплянню всередину сторонньої мікрофлори, і перешкоджає втраті води з живильного середовища, що може змінити концентрацію окремих компонентів. Робочий об'єм біореактора становить 10–35 мл, тобто близько 40% від загального об'єму. Cultiflask 50 постачають стерильними і відразу ж готовими до роботи.

Фірма випускає також одноразовий, повністю зібраний і готовий до використання полікарбонатний біореактор для ефективного лабораторного культивування клітин тварин, моноклональних антитіл, біомаси як посівного матеріалу моделі SuperSpinner D1000 об'ємом від 200 мл до 8 л (рис. 6).

Головна особливість ферментера SuperSpinner D1000 — наявність мембранної мішалки, яка дозволяє проводити кероване й ретельне перемішування, а також безпухирцеву аерацію, що виключає утворення піни. Принцип роботи мембранної мішалки полягає в тому, що на основу мішалки намотується низка поліпропіленових порожнистих волокон з нанопорами, крізь які просочується аераційне повітря (рис. 7).



Рис. 6. Одноразовий ферментер SuperSpinner D1000

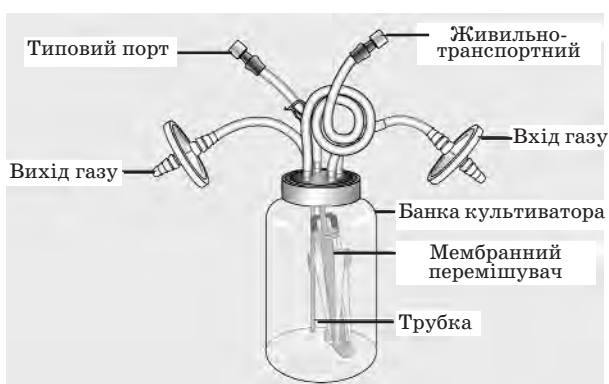


Рис. 7. Принципова схема SuperSpinner D1000

Схожу продукцію об'ємом 5 і 14 л під назвою CelliGen™ BLU виробляє компанія New Brunswick Scientific's. Німецька компанія DASGIP AG та її американська філія DASGIP BioTools LLC випускають лабораторні ОФА об'ємом від 0,4 до 5 л, при цьому одночасно можна проводити дослідження у восьми біореакторах (Parallel Bioreactor System the Mobius CellReady).

Швейцарська компанія INTEGRA Biosciences AG випускає одноразові двокамерні біореактори типу CELLline об'ємом 350 і 1 000 мл для лабораторного біосинтезу моноклональних тіл у гібридомі, рекомбінантних протеїнів, вірусів, культур клітин високої густини (CELLline CL 350, CELLline CL 1 000, CELLline AD 1000) (рис. 8).

Особливістю цих ОФА є те, що біореактор складається з двох камер. У верхній міститься розчин з живильним середовищем, а в нижній — культуральна рідина. Камери розділяє напівпроникна ацетатцелюозна мембрана, крізь яку безперервно дифундують поживні речовини і виводяться продукти метаболізму. Передача газу здійснюється



Рис. 8. Одноразовий біореактор типу CELLline

через силіконову мембрану, яка розташована внизу робочої камери (рис. 9).

Зауважимо, що CELLline AD призначена для культивування клітин, яким необхідна іммобілізація на поверхнях (anchorage-dependent cells).

Піонером у технології ОФА, згідно з якою як ємність використовують одноразову пластикову місткість у вигляді мішка, є фірма Wave Biotech AG, що була заснована в 1999 р. в Тагельсвангені поблизу Цюриха. Матеріал мішків BIOEAZE® Bags фірми SAFT, яка входить в корпорацію Sigma-Aldrich Corp., складається з шарів поліетилену низької густини (ПЕНГ), поліетиленвінілового спирту, знову ПЕНГу і, нарешті, з шару полівінілацетату. Можливі різні варіанти.

Виробник постачає мішок гарантовано чистим і стерильним з відповідним сертифікатом якості. Він споряджений фільтрами вхідного і відпрацьованого повітря або газу, а також пристроями для асептичного посіву, відбирання проб, збирання врожаю культури, датчиками контролю. Мішок розташовують на спеціальній платформі з нержавіючої сталі. Платформа, що розгойдується із заданою частотою ексцентриком у вертикальній площині, створює хвилеподібний рух живильного середовища усередині пластикового мішка. У результаті забезпечується ефективне перемішування за дуже м'якої динамічної дії на культуру мікроорганізмів або клітин (рис. 10).

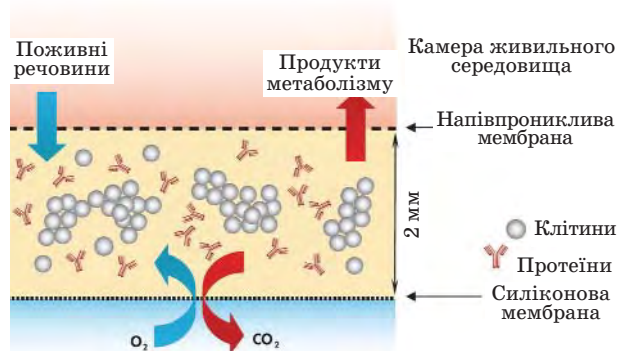


Рис. 9. Схема роботи двокамерного біореактора

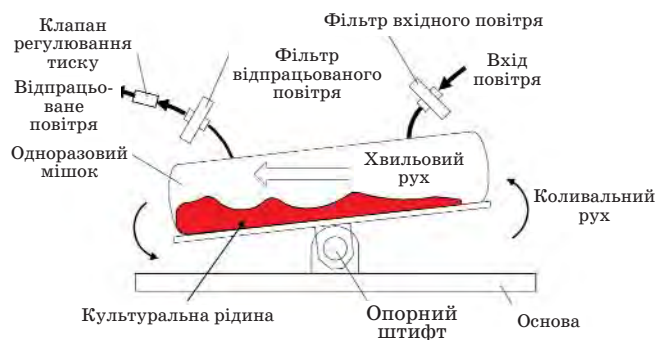


Рис. 10. Схема переміщення культуральної рідини в ОФА компанії Wave Biotech [10]

Компанія Wave Biotech AG сама є виробником низки ОФА з об'ємом мішків від 2 до 1000 л (рис. 11), але з 2007 р. вона вже діє як дочірня компанія фірми GE Healthcare.

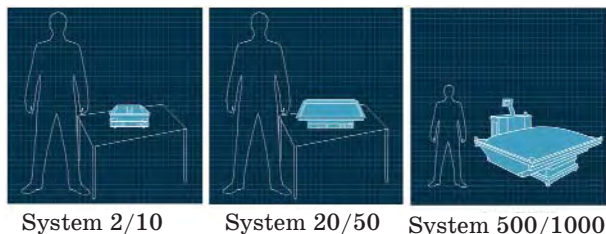


Рис. 11. Різні об'єми ОФА компанії Wave Biotech AG

Найбільш відомими і досконалими ОФА є ферментери Biostat Cultibag RM компанії Sartorius-Stedim Biotech, однак слід зауважити, що принцип дії ОФА німецько-французької фірми заснований на технології швейцарської компанії Wave Biotech AG.

Платформу Biostat Cultibag RM обладнано системою управління кутом і швидкістю коливальних рухів, системою термостатування, а також вбудованим компресором для аерації культури. Вона підключається до блоку управління із сучасною цифровою системою управління DCU-3. Останню спеціально розроблено для керування різноманітними процесами ферментації і вона вважається світовим еталоном.

ОФА Biostat Cultibag RM може бути в трьох модифікаціях: Basic, Optical, Perfusion. Модифікація Basic включає одноразові мішки, споряджені фільтрами вхідного і відпрацьованого повітря, шлангами для асептичного внесення добавок і відбору проб, а також датчиками температури й тиску. В модифікації Optical мішки додатково забезпечені одноразовими датчиками рН і концентрації розчиненого кисню. У модифікації Perfusion мішки містять вбудований фільтр,

що обертається, з розмірами пор 1–2 мкм для утримання культури всередині мішка і відведення продуктів метаболізму.

Ферментери Biostat Cultibag RM випускають трьох типорозмірів: лабораторний, пілотний і промисловий. На рис. 12 показано лабораторний варіант Biostat Cultibag RM 2 з одноразовими ємностями загальним об'ємом 2 л.



Рис. 12. Лабораторний варіант Biostat Cultibag RM

На рис. 13 зображено варіант ферментера Biostat Cultibag RM для роботи з клітинами тварин, рослин і комах.



Рис. 13. Варіант ферментера Biostat Cultibag RM для роботи з клітинами тварин, рослин і комах

Пілотний варіант Biostat Cultibag RM 20/50 застосовують як для наукових досліджень, так і для виробництва в невеликому масштабі. Мішки для цієї серії ОФА мають об'єм від 10 до 50 л (рис. 14, 15). Промислові варіанти ферментера Biostat Cultibag RM 100/200 мають загальний об'єм 100 або 200 л.



Рис. 14. Пілотний ферментер Biostat Cultibag RM 20/50 (20 л)



Рис. 15. Пілотний ферментер Biostat Cultibag RM 20/50 (50 л)

Лабораторну і пілотну ОФА (до 50 л) на платформах Appliflex, що гойдаються, випускає також компанія Applicon (рис. 16).

На рис. 17 показано одноразовий мішок Flexboy. Мішки створено для одержання, зберігання і транспортування біофармацевтичних розчинів, проміжних продуктів і великих партій готових продуктів. Об'єм мішків — від 50 мл до 50 л.

Більші партії розчинів (100–1 000 л) готують у мішках Flexel 3D (рис. 18), які встановлюють у каркаси типу Palettank (рис. 19).

На рис. 20 наведено зовнішній вигляд стерильного мішка з під'єднаними портами.



Рис. 16. Лабораторна ОФА компанії Applicon



Рис. 17. Одноразовий мішок Flexboy



Рис. 18. Одноразовий мішок Flexel 3D



Рис. 19. Каркас Palettank для мішків



Рис. 20. Мішок з під'єднаними портами

Конектори male і female luer («хлопчик–дівчинка») з портом відбору проб не потребують використання голок, дають змогу легко і зручно працювати з конектором, виключають помилку при з'єднанні. Мінітри-клампи (санітарні фланці), які часто використовують у промисловості для безпечного з'єднання, дають можливість максимально широко застосовувати такі мішки у біофармацевтичній промисловості.

Спеціальним конектором, який постачають у комплекті з виробами Sartorius Stedim Biotech, а також як самостійний пристрій для з'єднання двох окремих компонентів, що були попередньо простерилізовані, є одноразовий конектор OPTA SFT-I. Його можна використовувати у всіх операціях і на стадіях одержання й виділення цільового продукту, в яких застосовується одноразове обладнання.

На рис. 21 показано конектор OPTA SFT-I і порядок його застосування.



Рис. 21. Конектор OPTA SFT-I

Для стерильного зварювання і роз'єднання пластикових трубок діаметром від  $\frac{1}{4}$ " до  $\frac{3}{4}$ " використовують спеціальні пристрої BioWelder™ і BioSealer™ (рис. 22). Зварювання відбувається в автоматичному режимі навіть за умови, якщо трубки заповнені рідиною.

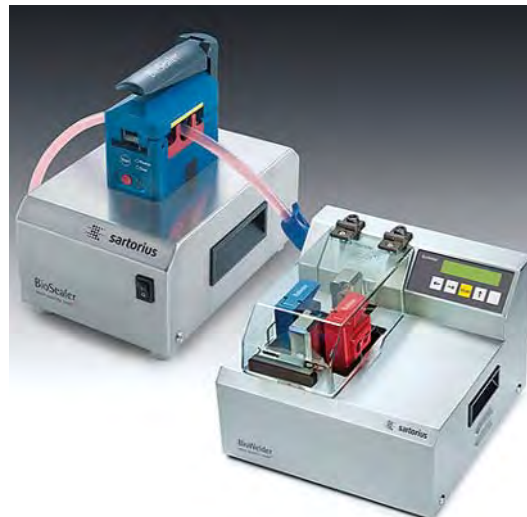


Рис. 22. Пристрої BioWelder™ і BioSealer™

У процесі виробництва лікарських субстанцій та інших біотехнологічно важливих продуктів зберігаються сировина і напівпродукти в технологічних ємностях.

Традиційно їх виготовляють з високоякісної полірованої нержавіючої сталі зі складною обв'язкою для миття і стерилізації, а також забезпечення асептики процесів наповнення, спорожнення і відбору проб. Ці ємності мають високу вартість і потребують складної валідації процесів їх миття і стерилізації. Сьогодні такі ємності можна замінювати одноразовими пластиковими контейнерами, які встановлюють у жорсткі несучі конструкції. Розмірний ряд таких контейнерів — від 1 до 3 000 л.

Для цієї мети компанія Sartorius Stedim Biotech випускає одноразові змішувачі, у виготовленні яких застосовують найновітнішу патентовану технологію LevTech. Ці змішувачі одержали назву Single Use Mixing LevTech Disposable Mixing System. Установки призначені для змішування різноманітних стерильних компонентів у виробництві лікарських засобів, зокрема компонентів живильного середовища для ферментерів. Вони можуть застосовуватись для змішування як рідких, так і сипких компонентів. Перемішування здійснюється одноразовим імперелером (рис. 23).



1 — магнітний левітатор;  
2 — одноразовий пластиковий імпелер (шар мішка не показано)



1 — одноразовий мішок;  
2 — пластина, що пов'язує імпелер і магнітний левітатор, з вирівнювальним штифтом  
3 — тепловий розділювач  
4 — надпровідник

**Рис. 23.** Перемішувальний пристрій LevTech для приготування живильних середовищ для ОФА (одноразовий мішок встановлено в корпус з нержавіючої сталі)

Раму, на якій розташовують одноразовий контейнер у каркасі, встановлюють на промислові ваги, споряджені принтером. Це дозволяє швидко і з великою точністю додавати компоненти, що змішуються, а також документувати процес приготування суміші.

Останнім часом компанія Sartorius Stedim Biotech розпочала випуск нової серії великогабаритних ОФА BIOSTAT CultivBag STR 200 та BIOSTAT CultivBag STR 200 Plus, які відрізняються системами контролю. Крім того, BIOSTAT CultivBag STR 200 Plus може бути в подвійній версії (рис. 24). Обидва типи призначено передусім для культивування клітин ссавців і комах, але у спеціальній версії їх можна використовувати для культивування будь-яких мікроорганізмів.

Мінімальний об'єм BIOSTAT CultivBag STR 200 — 50 л, максимальний — 280 л. Найближчим часом планується довести об'єм до 1 000 л. Інші технічні показники цих ОФА поки що не опубліковані, а тому є комерційною і технічною таємницею.

Біореактори NuClone розроблені також спеціально для культивування клітин ссавців (у тому числі на мікроносіях та у вигляді суспензій) і є незамінними у виробництві лікарських препаратів (наприклад, вакцин, антибіотиків), під час проведення досліджень у галузі біохімії, імунології тощо (рис. 25).

Усі поверхні, що контактують з культуральною рідиною (КР), наприклад внутрішня поверхня ємності, барботер, трубки підве-



**Рис. 24.** BIOSTAT CultivBag STR 200



дення/відведення рідин і газів, покривають одноразовими мішками. Важливим елементом такої одноразової конструкції є пластиковий (поліетиленовий) імпелер, з'єднаний із зовнішнім мотором.



Рис. 25. Вертикальний біореактор зі вкладеними одноразовими мішками типу NuClone

Сьогодні NuClone випускає ОФА об'ємом 50, 100, 250, 500, 1 000 і 2 000 л (планується довести об'єм до 10 000 л), причому мінімальний робочий об'єм дорівнює половині загального. Усі ємності мають подвійні стінки (оболонки) для управління температурним режимом шляхом подачі охолоджувальної води.

На рис. 26 і 27 подано зовнішній вигляд найбільшого ОФА (2 000 л) і одноразові мішки, які випускає компанія Xcellerex (США).

ОФА використовують не тільки в періодичних системах ферментації, але й для безперервних процесів. На рис. 28 показано обладнання для проведення безперервних процесів з рециркуляцією 20% одержаної біомаси.

Безперервний процес залежно від масштабу виробництва триває 19–28 діб з відбиранням врожаю протягом 12–22 діб, після чого проводять заміну мішків. У процесі використовують пневматичну центрифугу системи CentriTech® з одноразовими стерильними вкладками [10–11].



Рис. 26. Біореактор XDR2000



Рис. 27. Одноразові мішки для біореакторів Xcellerex

Корпорація Centocor R&D, Inc. також застосовує безперервний процес вирощування клітин з рециркуляцією біомаси за так званним процесом ATF System (Alternating Tangential Flow) [12]. Згідно з технологією в ОФА (від компанії NuClone) постійно подають живильне середовище, періодично КР уводять в камеру пневматичного діафрагмового насоса, який згодом прокачує її у зворотному напрямі, але при цьому КР тангенціально контактує з поверхнею одноразового перфузійного фільтра, внаслідок чого частина нативного розчину проходить фільтр і виводиться з установки як продукт, що містить цільові протеїни. Процес припиняють після досягнення вмісту клітин в КР 40–150 г/л.



Рис. 28. Обладнання компанії Xcellerex для проведення безперервного процесу ферментації з використанням ОФА

Усім великогабаритним ОФА притаманний недолік — проблемне перемішування імпелером, який встановлений внизу і тому не весь об'єм культуральної рідини ефективно перемішується. Привід імпелера — магнітний з використанням надпровідників. Отже, перемішування є технічно складним, з низьким коефіцієнтом масопередачі за киснем  $K_{об}$ . Цим недоліком можна знехтувати, якщо йдеться про культивування клітин з малою питомою швидкістю росту (рослинні, тваринні клітини), але під час культивування мікроорганізмів цей недолік стає вже досить помітним. Можливо, тому в ОФА компанії NuClone або Xcellerex застосовують звичайний перемішувальний пристрій з уведенням штоку мішалки зверху по діагоналі, але при цьому виникають проблеми з ізоляцією мішалки від довкілля.

Сьогодні компанії ATMI LifeSciences (у частині розроблення багатошарової плівки ТК8, яку стерилізують  $\gamma$ -опромінюванням, і системи перемішування), PIERRE GUERIN-BIOLAFITTE (розроблення біореактора в цілому і системи контролю) і ARTELIS (оптимізація процесів ферментації) анонсують, не розкриваючи технічних подробиць, нові ОФА типів Nucleo-50 (об'єм від 25 до 600 л) і Nucleo-1000 (від 250 до 1 200 л), а також новий спосіб перемішування за технологією Pad-Drive™. Цей спосіб передбачає комбінацію лопатевої мішалки і ерліфта, який дозволяє збільшити  $K_{об}$ , а відтак і продуктивність біореакторів [13]. За цим способом аераційний газ, що надходить у мішок, одночасно обертає лопатеву мішалку.

На рис. 29 і 30 показано загальний вигляд Nucleo™-50 і схематичну будову біореактора.

Проблему перемішування компанія Cellexus Ltd (Кембридж, Велика Британія, [www.cellexusbiosystems.com](http://www.cellexusbiosystems.com)) вирішує просто: ОФА цієї компанії взагалі не мають механічних пристроїв для перемішування, замість них використовують просту і дешеву ерліфтну систему (рис. 31). Проте, як і будь-яким ферментерам з ерліфтом, їм притаманні недоліки — низький коефіцієнт масопередачі за киснем та інтенсивне піноутворення.



Рис. 29. Зовнішній вигляд Nucleo™-50

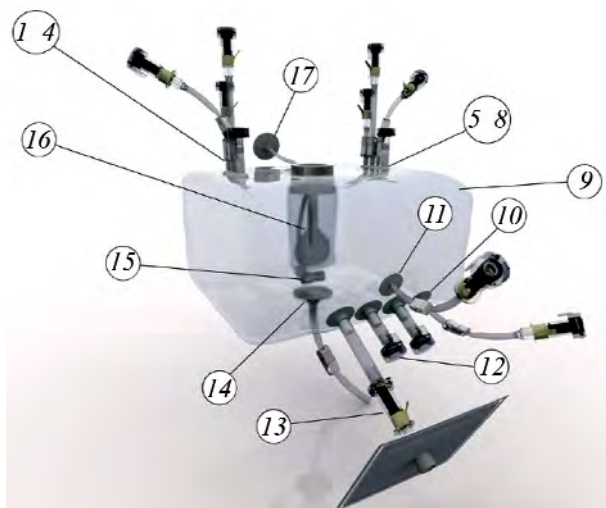


Рис. 30. Схематична будова Nucleo™-50:

1–4 — мультипорти (можуть бути використані для завантаження живильного середовища, входу/виходу газів, посівного матеріалу, кислоти тощо); 5–8 — резервні порти; 9 — одноразовий мішок; 10 — порт для відбору проб; 11–14 — конектори; 15 — аератор з мікроотвором (20 мкм) або макроотвором (2 мм); 16 — веслоподібний перемішувальний пристрій у рукавній оболонці (2–110 об/хв); 17 — вхід аераційного газу



Рис. 31. ОФА CellMaker Regular компанії Cellexus Ltd

У 2006 р. в США запатентовано новий цікавий і простий спосіб перемішування в ОФА, який заявлено фірмою Hoffman, Warnick & D'Alessandro LLC [14]. Суть способу, який названо Twistafarm, полягає в тому, що каркас з одноразовим пластиковим мішком встановлюють на платформу, яка приводиться в дію ексцентриком і може здійснювати обертовий рух за і проти ходу

годинникової стрілки без різкої зміни ходу. Внаслідок цього вміст мішка м'яко перемішується. Один двигун може приводити в дію декілька платформ (рис. 32).

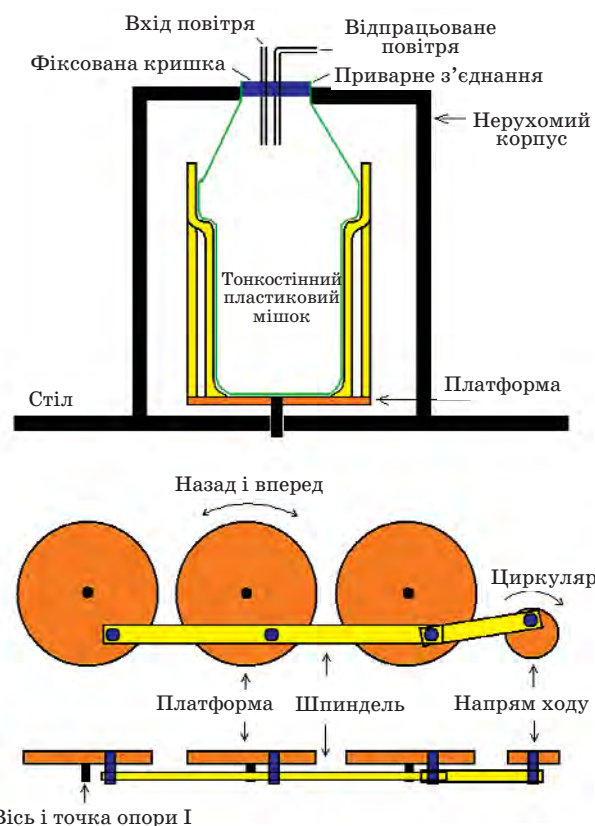


Рис. 32. Схема перемішування культуральної рідини в ОФА за допомогою ексцентрика

Такий тип ОФА дозволяє, по-перше, просто і надійно ізолювати культуральну рідину (КР) від довкілля; по-друге, завдяки можливості одночасної ферментації в декількох (до п'яти) ферментерах вирішити проблему збільшення масштабів виробництва.

Проблему ефективного і м'якого перемішування в ОФА, ймовірно, може розв'язати також спосіб, який застосовується в металевих газово-вихрових ферментерах (ЗАТ «Саяни», Новосибірськ) [15, 16]. У цих ферментерах перемішування культуральної рідини здійснюється шляхом створення в рідкому середовищі тривимірного руху типу «вихрове обертальне кільце», при цьому перемішується не рідина, а газовий простір над КР. Рух генерується аерувальним газовим вихором за рахунок перепаду тиску над поверхнею і сили тертя повітряного потоку об поверхню суспензії. Такий спосіб перемішування, якому не притаманні недоліки механічного перемішувального пристрою та ерліфта,

запатентовано в Європі (№ 112460) і США (№ 6632657) [17]. Перевагою його є й те, що ефективність перемішування не залежить від в'язкості культуральної рідини. Вважають також, що в технології виробництва вакцин газиво-вихрові ферментери можуть замінити ролерні технології вирощування особливо чутливих до механічного подразнення клітин, зокрема ембріональних тілець

з культури ембріональних клітин людини лінії hESMO3, моноклеарної фракції клітин кісткового мозку донора, яку вирощено на носіях (як у хайклонівських ОФА) [18].

Більш докладну інформацію про одноразові системи для біотехнологічних процесів, зокрема приклади їх застосування, можна знайти в [19–27].

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Lewcock A.* Sartorius Stedim Biotech born, 2007. — <http://www.in-pharmatechnologist.com/Processing/QC/Sartorius-Stedim-Biotech-born>.
2. *Wilson J. S.* A Fully Disposable monoclonal Antibody Manufacturing Train // BioProcess International, June 2006. — <http://www.bioresearchonline.com/download.mvc/Feature-Article-A-Fully-Disposable-Monoclonal-0001>.
3. *Gallier P. M.* Turnkey Modular Disposable Vaccine Production Plants. // IABS: New Cells for New Vaccines III: From Lab Bench to Clinical Trials. ( 28 September — 1 October 2008. Hotel du Pont, Wilmington, Delaware, USA. — <https://www.regonline.com/custImages/244811/NCNV%20III/Day...07/Parrish%20Gallier.pdf>.
4. *D'Aquino R.* Disposable equipment: A mainstay in bioprocessing // Chemical Engineering Progress. — 2002. — November. — <http://www.allbusiness.com/business-planning/1030552-1.html>.
5. *Sinclair A., Monge M.* Quantitative economic evaluation of single use disposables in bioprocessing // Pharmaceut. Eng. — 2002. — V. 22. — P. 20–34.
6. *Mintz C.* Single-Use, Disposable Products: A «State Of The Industry» Update // Life Sci. Leader. — 2009. — N 7. — [http://www.lifescienceleader.com/index.php?option=com\\_jambozine&layout=article&view=page&aid=3856&Itemid=56](http://www.lifescienceleader.com/index.php?option=com_jambozine&layout=article&view=page&aid=3856&Itemid=56).
7. *Ultee M. E.* Single-Use Components in Biopharmaceutical Manufacturing: Opportunities Outweigh Objections // PharmPro. — 2009. — N 2. — <http://www.pharmpro.com/Articles/2009/03/Objections-Overruled/>
8. *Попов А. Ю.* Новый подход к управлению рисками при производстве ЛС. — <http://www.gmpnews.ru/2009/09/novyj-podxod-k-upravleniyu-riskami-pri-proizvodstve-ls/>.
9. *DiBlasi K., Jornitz M. W., Gottschalk U., Priebe P. M.* Disposable Biopharmaceutical Processes — Myth or Reality? // Supplement to: Intern. BioPharm. — 2006. — N 11. — P. 6–16.
10. *Vijay Singh.* Disposable bioreactor for cell culture using wave-induced agitation // Cytotechnology. — 1999. — V. 30. — P. 149–158.
11. Scale-Up to 1000 L Perfusion Cell Culture in a Disposable Stirred-Tank Bioreactor // Appl. Brief. — 2008. — April 7. — [www.xcellerex.com](http://www.xcellerex.com).
12. ATF Technology. — <http://www.refinotech.com/atf-technology.php>
13. Nucleo™: The Next Generation Single-Use Bioreactor. — <http://www.dci-bio.com/products/single-use/nucleo50.asp>
14. *Pat. 20060019376 US C12M1/02.* Fermentation chamber and mixing apparatus / Bungay H. R., Bungay J. S., Sigsby J. G. — Filing Date: 07/21/2005; Publication Date: 01/26/2006.
15. *Мертвецов Н. П., Рамазанов Ю. А., Репков А. П. и др.* Газовихревые биореакторы «Биок». Использование в современной биотехнологии. — Новосибирск: Наука, 2002. — 118 с.
16. *Кислых В. И., Рамазанов Ю. А., Косюк И. П. и др.* Безградиентные газиво-вихревые биореакторы в современной биотехнологии // Интеграл. — 2005. — Т. 22, № 2. — С. 78–89.
17. *Pat. 6632657 US C12M1/04; C12M1/06; C12M3/02; C12M1/04.* Apparatus for cultivating tissue cells and microorganisms in suspension / Kislykh V. I., Ramazanov J. A., Repkov A. P. (all RU). — Filing Date: 03/19/2001; Publication Date: 10/14/2003.
18. *Сусский Е. В., Ярцев С. Н., Мухеев В. М. и др.* Замена роллерных технологий при промышленном производстве вакцин и других лекарственных препаратов // Пятый Моск. междунар. конгресс «БИОТЕХНОЛОГИЯ: состояние и перспективы развития», Москва, 16–20 марта, 2009. — <http://www.bioreactor.ru/files/0002.doc>
19. *Terryberry J. W., Thor G.* Biodisposables: Utility and Technological Advances // Report 9215, June 2006. — [http://www.bioportfolio.com/cgi-bin/acatalog/9215\\_Disposables.pdf](http://www.bioportfolio.com/cgi-bin/acatalog/9215_Disposables.pdf).
20. *Pierce L. N., Shabram P. W.* Scalability of a Disposable Bioreactor from 25 L-500 L Run in Perfusion Mode with a CHO-Based Cell Line: A Tech Review // BioProcessing J. — 2004. — July/Aug. — P. 51–56.
21. *DeFife K., Leigh Pierce L.* Versatility of a Single-Use Bioreactor Platform for Culture of Diverse Cell Types // BioPharm Intern. —

2009. — V. 22, N 2. — [www.biopharminternational.com](http://www.biopharminternational.com).
22. *Cohee D., Singh V.* A Novel Disposable Mixing Technology // *Gen. Eng. News.* — 2005. — V. 25, N 14. — [http://www.pacificgmp.com/Resources/Scientific\\_Articles.php](http://www.pacificgmp.com/Resources/Scientific_Articles.php).
23. *Fox S.* Disposable BioProcessing: The Impact of Disposable Bioreactors on the CMO Industry // *Contract Pharma.* — 2005. — V. 7, N 5. — P. 62–74.
24. *Ohashi R., Singh V., Hamel J.-F. P.* Perfusion Cell Culture in Disposable Bioreactors. — Paper presented at 17th European Society for Animal Cell Technology Meeting, 2001, June 10(14, Sweden (6 page). — [http://www.pacificgmp.com/Files/Perfusion\\_Cell\\_Culture.pdf](http://www.pacificgmp.com/Files/Perfusion_Cell_Culture.pdf)
25. *Singh V.* Disposable bioreactor for cell culture using wave-induced agitation // *Cyotechnology.* — 1999. — V. 30. — P. 149–158.
26. *Ransohoff T.* The Use of Disposable and Alternative Purification Technologies for Biopharmaceuticals // *IIR Biopharmaceutical Production Conference, July 22, 2005.* — [www.bioprocessconsultants.com](http://www.bioprocessconsultants.com).
27. *Sinclair A., Monge M.* Biomanufacturing for the 21st Century: Designing a concept facility based on single-use systems // *BioProcess Intern.* — 2004. — N 10. — P. 2–9.

## ОДНОРАЗОВАЯ ФЕРМЕНТАЦИОННАЯ АППАРАТУРА

*Ю. И. Сидоров*

Национальный университет  
«Львовская политехника»

*E-mail: sydorowy@rambler.ru*

Приводятся сведения об инновационном типе ферментационной аппаратуры — одноразовых пластиковых ферментерах, которые используют в биофармацевтической промышленности, объемом от нескольких см<sup>3</sup> до нескольких м<sup>3</sup>. Пластиковые мешки-ферментеры поставляются централизованно в стерильном виде, что снимает проблемы многократной мойки и стерилизации аппаратов на месте (CIP/SIP). Несмотря на повышение текущих расходов, связанных с применением достаточно дорогих пластиковых ферментеров, капитальные вложения в новые производства с новой аппаратурой значительно уменьшаются; следовательно, уменьшаются амортизационные расходы и себестоимость продукции, что дает значительный экономический эффект. Рассмотрены основные конструкции одноразовой ферментационной аппаратуры — от пластиковой пробирки 24-Micro и Micro-Flask до промышленных биореакторов с перемешиванием «волной» или с помощью внутреннего импеллера, который приводится в действие внешним магнитным полем.

**Ключевые слова:** одноразовая ферментационная аппаратура, одноразовые пластиковые ферментеры.

## DISPOSABLE FERMENTATION FACILITIES

*Yu. I. Sidorov*

National University  
«Lviv's polytechnica»

*E-mail: sydorowy@rambler.ru*

Information on the innovative type of fermentation facilities namely disposable plastic bioreactors used in biopharmaceutical industry in size from a few cubic centimeters to some cubic meters is given. Plastic bag-bioreactors are supplied centrally in sterile packaging that takes off the problems of the multiple washing and sterilization of the apparatus in place. In spite of current costs increasing due to using of the considerably expensive plastic bioreactors, capital investments in new productions with new facilities decrease considerably; therefore, depreciation costs and production price are falling off and results in a considerable positive economic effect. The basic constructions of disposable fermentation facilities (DFF) are considered — from a plastic test tube 24-Micro and Micro-Flask to industrial DFF with wave action or by an internal impeller that is set going under the external magnetic field.

**Key words:** disposable fermentation facility, disposable plastic fermenter.