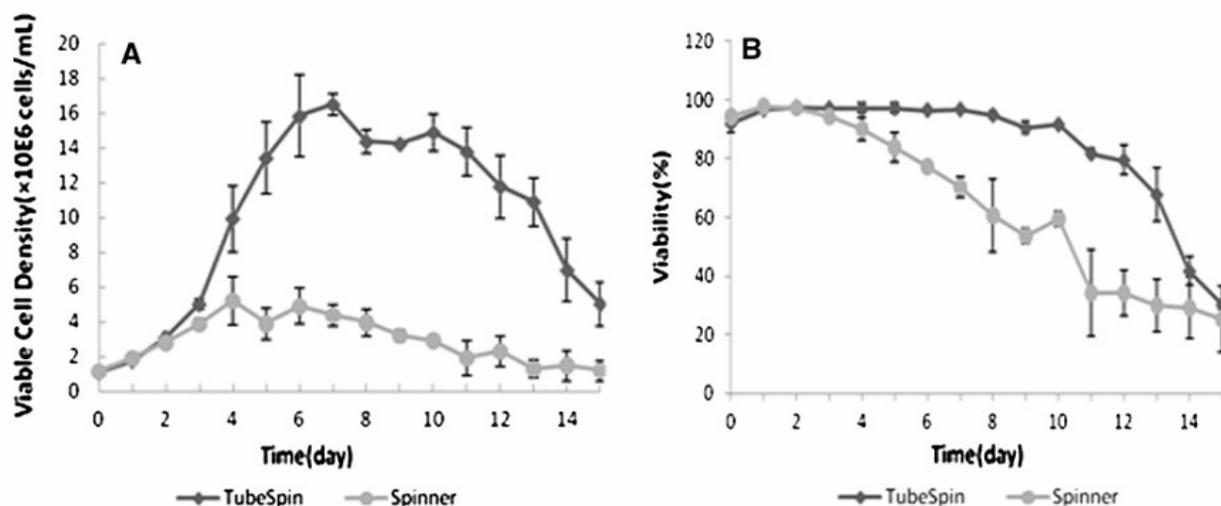


Биореакторы TPP Обзор из статей

Биореакторы, они же TubeSpin или Spin Tube, были разработаны TPP для культивирования суспензионных клеток тканей млекопитающих, однако по своим параметрам они подходят для любых суспензионных культур, в частности для клеток насекомых. Биореакторы демонстрируют эффективность сопоставимую с традиционно используемой посудой (роллерные бутылки, колбы Эрленмейера и колбы для встряхивания) и по некоторым параметрам даже превосходят её. Форма Биореакторов 50 в виде стандартных центрифужных пробирок на 50 мл позволяет осажать клетки центрифугированием без предварительного переноса, что снижает риск контаминации. Диапазон рабочего объема от 10 до 34 мл позволяет снизить расход питательных сред и облегчает проведение больших экспериментов без снижения представительности результата. Небольшая площадь, занимаемая Биореакторами, даёт возможность постановки большего числа параллельных опытов, чем при использовании роллерных бутылок и колб, что важно при подборе лучших параметров наработки продукта в биотехнологическом производстве или в масштабных исследованиях.

В исследовании “TubeSpin bioreactor 50 for the high-density cultivation of Sf-9 insect cells in suspension” авторов Q. Xie, P.O. Michel, L. Baldi, D.L. Hacker, X. Zhang, F.M. Wurm от 2010 года Биореакторы 50 были использованы для культивирования клеток насекомых Sf-9 с последующим заражением рекомбинантным бакуловирусом и наработкой белка. Наряду с Биореакторами использовались колбы для встряхивания и роллерные бутылки объёмом 250 мл с рабочим объёмом 50 мл. После внесения клеточных культур в концентрации 10^6 клеток/мл и инкубации в шейкере максимальная концентрация клеток составила 16×10^6 клеток/мл для Биореакторов и 6×10^6 клеток/мл для роллерных бутылок, при этом жизнеспособность 90% клеток в Биореакторах сохранялась в течение 10 дней, а в роллерных бутылках только 4 дня.



После заражения культур клеток SF-9 в Биореакторах, роллерных бутылках и колбах Эрленмейера бакуловирусом, несущим вектор рекомбинантного GFP белка (green fluorescent protein), была измерена концентрация наработанного белка через три временных промежутка (24 ч, 48 ч, 72 ч). Значения концентрации продукта для всех типов флаконов совпадали в пределах погрешности метода измерения.

В статье “Optimization of Cultivation Conditions in Spin Tubes for Chinese Hamster Ovary Cells Producing Erythropoietin and the Comparison of Glycosylation Patterns in Different Cultivation Vessels” 2010 года исследователями из Словении J. Strnad, M. Brinc, V. Spudic, N. Jelnikar, L. Mirnik, B. Carman, Z. Kravanja приведены результаты исследовательской работы по поиску оптимальных условий для культивирования клеток яичников китайских хомяков. Эти клетки обладают способностью нарабатывать крайне важный для фармацевтической промышленности гликопротеин – человеческий α -эритропоэтин.

Опыт по культивированию клеток проводился одновременно в Биореакторах 50, в культуральных конических колбах (Corning-Costar) объемом 250 мл с рабочим объёмом 50 мл и в автоматическом настольном биореакторе с функциями контроля основных параметров среды.

После 7 дней культивирования эксперимент был прекращён, концентрация продукта была измерена с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Table 4. Validation for Calculated 95% Prediction Intervals (PI) for Product Titer

	Setting	Shaking Rate (rpm)	Working Volume (mL)	Average Titer/(mg/L)			
				Low PI	Predicted	High PI	Observed
Spin Tube	A	180	30	30	40	60	54
Shake Flask	B	90	50	/	/	/	50
Spin Tube	C	300	14	36	53	97	81
Bioreactor	D	/	5000	/	/	/	78

Как видно из таблицы, наибольшее значение выхода продукта было достигнуто в Биореакторах SpinTubes при объёме среды 14 мл и большом значении оборотов шейкера. Это объясняется хорошим поступлением кислорода к клеткам при подобных параметрах, что прямым образом влияет на выход белка.

Хотя сравнивать автоматический биореактор с одноразовой культуральной посудой не совсем корректно, так как это система предназначенная для количественной наработки белка, с большим количеством контролируемых параметров и намного большим рабочим объёмом, что в свою очередь делает нецелесообразным проводить “пристрелочные” опыты на подобном оборудовании. Именно для отработки методики и подбора параметров идеально подходят Биореакторы TPR, так как позволяют варьировать параметры (рабочий объём, обороты, газообмен) в широких пределах при снижении затрат по сравнению с другими видами подходящей культуральной посуды.