

Об'єкт винаходу належить до фармацевтичної біотехнології і може бути використаний для культивування біологічних агентів (БА), таких, як культури клітин людини та тварин в періодичних та безперервних процесах при отриманні біомаси та біологічно активних речовин.

Для отримання специфічних активних фармацевтичних інгредієнтів біологічного походження як продуценти біологічно активних речовин використовують клітини людей та тварин. Більшість клітин схильні розвиватись у вигляді тонкого моношару, якому необхідна поверхня для адгезії та підтримання сприятливих умов культивування.

Одним із найважливіших факторів при проведенні процесу культивування клітинних культур є підтримання належного рівня напружень зсуву шарів рідини відносно поверхні клітин, унеможливлення прямого контакту поверхні бульбашок аераційного повітря з клітинами та відведення продуктів метаболізму.

Відома конструкція біореактора Corning® CellSTACK® Culture Chambers [1]. Апарат складається з корпусу, у якому розташовані паралельно один одному прямокутні пластини із полімерного матеріалу. Поживне середовище із посівним матеріалом вводиться в апарат через патрубки та рівномірно розподіляється по кожній із пластин. Апарат поміщають в термостат для проведення культивування. Недоліком даного апарата є те, що в ньому не проводиться циркуляція та аерація поживного середовища та контроль критичних параметрів процесу і, як наслідок, даний біореактор придатний переважно для виконання дослідних робіт та робіт у дослідно-промислових масштабах.

Також з рівня техніки відома конструкція біореактора Pall iCELLis® [2], що складається із циліндричного корпусу, всередині якого поміщаються насадки у вигляді хаотично розташованих волокнистих смужок, на поверхні яких закріплюються та розвиваються клітини. Апарат в центральній частині має циркуляційну трубу, в якій, завдяки магнітному перемішуючому пристрою, організований висхідний потік поживного середовища через насадки. Апарат має аераційний пристрій, датчики вимірювання критичних показників та систему автоматизації для підтримання оптимальних умов культивування. Недоліком даної конструкції є використання як поверхні для прикріплення та росту клітин насадок у вигляді довільно розташованих смужок із волокнистого матеріалу, що у свою чергу створює неоднорідні гідродинамічні умови та становить проблему з відділенням та збором клітин після культивування.

З рівня техніки відома конструкція біореактора Xpansion system Multiplate bioreactor [3] для культивування клітинних культур у вигляді моношару. В корпусі біореактора знаходиться ємність циліндричної форми, всередині якої розміщена конструкція з набором пластин загальною площею до 122400 см² з кроком 1,6 мм між пластинами. По осьовій вертикальній лінії знаходиться трубка, в якій відбувається аерація поживного середовища. Газ із аератора надходить у біореактор і проходить через тонку силіконову трубку, розміщену в центральній колонії, сформованій стопкою пластин, де він дифундує в поживне середовище. Культуральну рідину та поживне середовище подають у внутрішній об'єм апарату. Циркуляція поживного середовища відбувається висхідним потоком через поздовжні радіальні отвори на дисках при перемішуванні мішалкою з магнітним приводом, яка розташована у нижній частині апарату.

Вищезазначений біореактор є найбільш близьким до винаходу за технічною суттю та ефектом, що досягається, і прийнятий за найближчий аналог.

Недоліком біореактора Xpansion є: нерегульована і нерівномірна упродовж циклу культивування інтенсивність циркуляції поживного середовища в радіальних поздовжніх отворах. Сформований шар клітин на поверхні пластин буде ушкоджуватись завдяки дії високих напружень зсуву потоку поживного середовища через флуктуації швидкості потоків поживного середовища під час циркуляції. Суттєвим недоліком є можливість виникнення дефіциту розчиненого кисню в поживному середовищі при формуванні біоплівки клітин на поверхні аераційної трубки.

В основу запропонованого винаходу поставлена задача шляхом внесення змін у конструкцію біореактора поліпшити умови культивування для біологічних агентів у вигляді клітинних культур, зокрема, підвищити концентрацію розчиненого кисню та поживних речовин, створити оптимальну гідродинамічну обстановку в зоні закріплення та росту клітин.

Поставлену задачу вирішують тим, що в біореакторі для культивування клітинних культур, який має циліндричний корпус, розташовані в корпусі пакет пластин у вигляді дисків для адгезії і розвитку клітин та аераційний пристрій, в якому, згідно з винахідницьким задумом, аераційний пристрій розташований в сорочці апарата та має всередині змійовик з гідрофобного силікону, що утворює канали для циркуляції та інтенсифікації процесу аерації поживного середовища, диски для адгезії мають по краю з одного боку видалені сегменти, при наборі пластин в пакет для ефективної циркуляції поживного середовища та підведення поживних речовин до поверхні клітин сегменти на сусідніх дисках розташовують у шаховому порядку.

Суть винаходу пояснюється кресленням, де на фіг. 1 – схематично показано розріз біореактора для культивування клітинних культур, на фіг. 2 – розташування пластин для адгезії і розвитку клітин із зазначенням видалених сегментів на верхній пластині та пластині, що розташована безпосередньо за

нею, на фіг. 3 – схема потоку поживного середовища в апараті (потік показаний товстою чорною лінією, напрям руху зазначений стрілками).

Біореактор складається з циліндричного корпусу 1, кришки 2, що містить патрубок 3 подачі поживного середовища, патрубок 4 подачі посівного матеріалу, повітровідвідник 5, гільзу 6 датчика розчиненого кисню та гільзу 7 датчика рН-метра. Днище 8 апарата має патрубок 9 для циркуляції поживного середовища через перистальтичний насос 10.

Аераційний пристрій являє собою сорочку апарата 12, в якому поміщена трубка 11 у вигляді змійовика з гідрофобного полімеру, та має патрубок 13 для подачі поживного середовища на аерацію, патрубок 14 повернення поживного середовища в апарат, патрубок 15 подачі аераційного повітря та патрубок 16 відводу відпрацьованого повітря.

Насадки, на поверхні яких закріплюються та розвиваються біологічні агенти 17, розташовані на валу 18 із певним кроком (H). Таке розташування дозволяє забезпечувати направлений потік поживного середовища, омиваючи всю поверхню кожної пластини.

Біореактор працює наступним чином. Готовий до використання апарат розташовують на підставці та підключають до комунікацій. Через патрубок 3 подають стерильне поживне середовище до вказаного рівня наповнення. Потім, через патрубок 4 вносять посівний матеріал. Під час наповнення апарата штуцер повітровідвідника 5 повинен бути відкритий, щоб уникнути зростання тиску всередині біореактора. Пластини, на яких відбувається прикріплення та ріст біологічних агентів 17, розташовані на валу 18 з утворенням каналів, по яких поживне середовище циркулює низхідним потоком (фіг. 2). Утворення каналів відбувається за рахунок збирання дисків у пакети таким чином, що сегменти на сусідніх дисках розміщуються у шаховому порядку. Після внесення поживного середовища та посівного матеріалу вмикають подачу аераційного повітря через патрубок 15 та відведення через патрубок 16. Після заповнення та часткової адгезії клітин вмикають перистальтичний насос 10 для циркуляції поживного середовища з патрубка 9, що розташований на днищі 8, та повернення цього середовища всередину апарата через патрубок 14. Рухаючись по каналах, що утворені полімерною гідрофобною селективною до кисню трубкою 11 та корпусом апарата 1, поживне середовище насичується киснем та повертається у верхню частину апарата (фіг. 3). На кришці 2 розташовані датчики розчиненого кисню 6 та датчик рН 7.

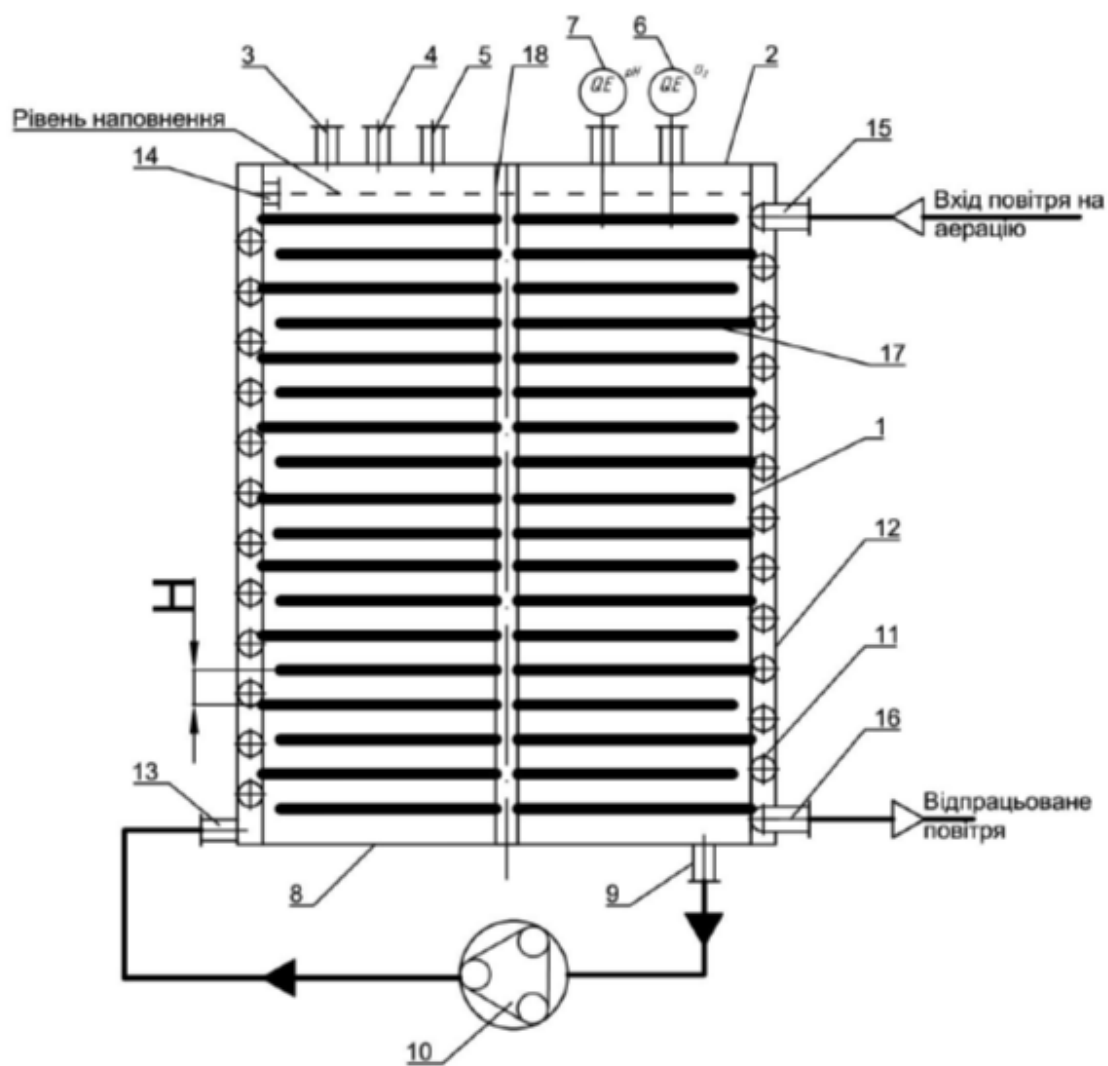
Даний біореактор належить до категорії Single Use Bioreactor – тобто його постачають вже у зібраному вигляді, стерильним та готовим до використання. Після завершення процесу апарат утилізують. Завдяки конструктивним особливостям вдається підвищити вихід біологічних агентів та забезпечити окупність апарата.

Джерела інформації:

1. Corning® CellSTACK® Culture Chambers [Електронний ресурс]: <https://ecatalog.corning.com/life-sciences/b2b/US/en/Browse-Products-by-Application/Cell-Therapy-and-Vaccines/CellSTACK%C2%AE/Corning%C2%AE-CellSTACK%C2%AE-Culture-Chambers/p/corningCellSTACKCultureChambers>

2. iCELLis® Single-Use Fixed-Bed Bioreactor Systems [Електронний ресурс]: <https://shop.pall.com/us/en/biotech/cell-culture/bioreactors/zidhw7uq21l>

3. Xpansion® Multiplate Bioreactor System [Електронний ресурс]: https://www.pall.com/content/dam/pall/biopharm/lit-library/non-gated/Datasheets/xpansion-multiplate-bioreactor-system-ds-en.pdf?_ga=2.153313904.932594287.1645473740-1204658267.1631968050



Фіг. 1

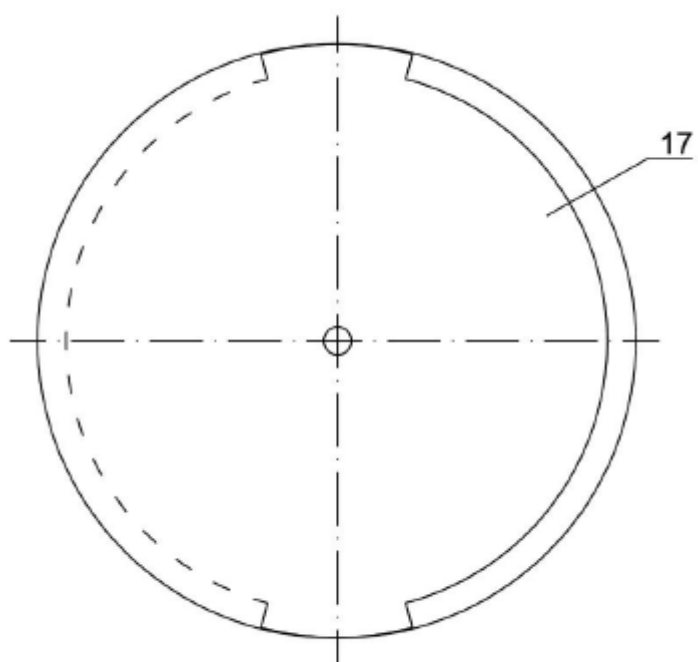


Fig. 2

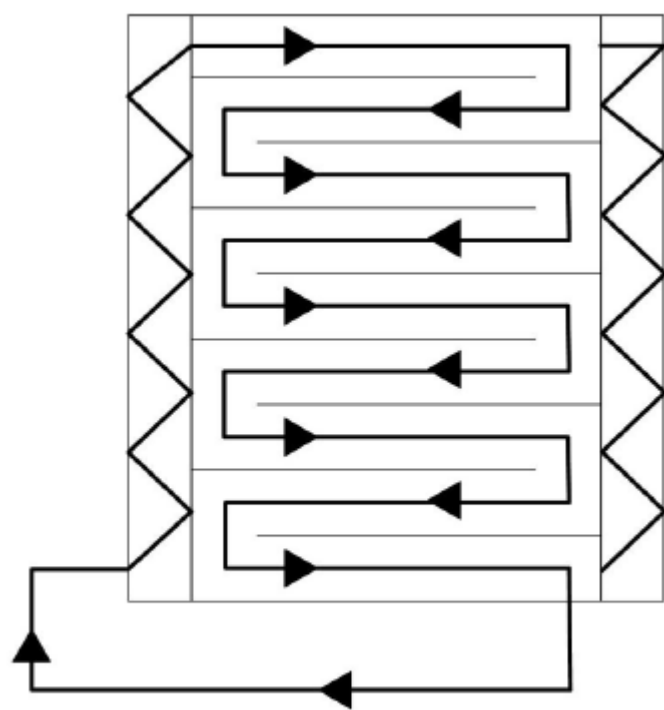


Fig. 3