AAV生产

# 利用 CTS AAV-MAX 生产系统在 DynaDrive 一次性生物反应器中生产 1000L 规模的 AAV

关键词

AAV-MAX，DynaDriveS.U.B.，AAV生产，放大生产，一次性技术

## 简介

随着临床和商业阶段腺相关病毒（AAV）基因疗法数量的增加，企业面临着如何将病毒载体生产工艺放大到生产规模的挑战。

先前的研究已经证明了 Gibco™ CTS™ AAV-MAX 无辅助 AAV 生产系统在 Thermo Scientific™ DynaDrive™一次性生物反应器（S.U.B.）中生产 50L 规模 AAV 的可放大性 [1]。作为该项研究的进一步延续，本研究介绍了如何在 5000L DynaDrive S.U.B. 中将相同的工艺放大到 1000L 工作体积的商业生产规模，以及如何在此规模下成功实现这些工艺的具体指导。

The world leader in serving science

## 材料和方法

### CTS 病毒生产细胞 2.0 培养物

在整个种子培养和生物反应器中，将 Gibco™ CTS™ 病毒生产细胞 2.0（VPC 2.0）培养在 Gibco™ CTS™ 病毒生产培养基中（表 1 ）。按照 AAV-MAX 系统用户指南[2] 中的建议，将细胞解冻并培养在摇瓶中，然后接种到 50 L DynaDrive S.U.B. 中，再接种到 5000 L DynaDrive S.U.B. 中，从而在生产前进一步扩增细胞。

表 1. 材料和试剂

| | |
|---|---|
| CTS AAV-MAX 无辅助病毒 AAV 生产系统 | CTS AAV-MAX 转染试剂盒<br>• CTS AAV-MAX 转染试剂<br>• CTS AAV-MAX 转染加强剂<br>• CTS AAV-MAX 增强剂 |
| 用于生产表达 GFP 的 AAV 血清型 6（AAV6-GFP）的 DNA 质粒 | CTS™ HyPerformA™ 络合缓冲液 |
| 核酸酶 | Pierce 细胞裂解通用核酸酶，100 kU |
| 氯化镁 | Invitrogen $MgCl_2$（1 M） |
| 一次性生物反应器过滤器（S.U.B. 硬件） | DynaDrive 50L 生物工艺容器，选用 Aegis5-14 膜材<br>DynaDrive 5000L 生物工艺容器，选用 Aegis5-14 膜材<br>5000L DynaDrive S.U.B. |

生 种子培养扩增

50 rive S.U.B. 均控照产品用户指南[3]进行设置，并
利 ic™ HyPerformA™ 络合缓冲液控制器来控制 每个
生 上 1000 L 生产规模的工艺操作参数。 将 CTS
VI AAV-MAX 裂解物接
，到 50 L DynaDrive S.U.B.，工作体 积为 10 L
10 50 L 的全工作体积。当细胞密度 达到 4.5 ×
Dy 用培养物接种到工作体积为 300 L 的 5000 L
90 1.5 mg 质粒 DNA/1 L 转染培养物，作为 N-1 培养物。3 天后， 培养物培养至
V 以起始密度为 2.3×$10^6$ 个活细 胞 / 毫升（
在 行。为了制备转染用培养物，将 CTS VPC 2.0
V 培养至目标密度至少 3.0×$10^6$（±0.5×$10^6$）
养 95%。在整个规模放大和生产 过程中，对照培
，测定生长动力学、代谢参数 和病毒基因组滴度
，并以数据进行比较。

表 。

| 参数 | 5000 L DynaDrive S.U.B. |
|---|---|
| 最终工作体积 | 1,000 L |
| 温度 | 37° C |
| pH | 7.0 ± 0.2 |
| pH 值控制 | CO2 通过小的钻孔式气体分布器（DHS）通入 |
| 搅拌 | 40 rpm (P/V: 20 W/m³) |
| 溶解氧（DO） | 40% |
| DO 级联 | 通过大小 DHS 分布器级联空气和氧气的通入 |
| 顶部通气 | 32.5 slpm |
| 目标接种密度 | 1.5 × $10^6$ VC/mL |
| 目标转染密度 | 3.0 × $10^6$ (± 0.5 × $10^6$) VC/mL，细胞活力 ≥ 95% |

*目标接种密度为1.5 × $10^6$ VC/mL（表2），但在本实验中，由于体积限制，细胞接种密度为2.3 × $10^6$ VC/mL。

由于接种密度较高，葡萄糖在第3天左右耗尽，速度比正常情况下要快。



以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：https://d.book118.com/248113100046006113