

Introduction à USP - Développement du train de semences

Vos objectifs:

A la fin de la leçon, vous devriez être en mesure d'enchaîner les étapes du développement d'un train de semences.

Un **train de semences** sert à générer un nombre adéquat de cellules pour l'inoculation d'un bioréacteur de production. À partir des volumes utilisés pour la décongélation des cellules ou l'entretien des lignées cellulaires, le nombre de cellules devra être augmenté, ce qui demande beaucoup de temps et d'argent.

Un processus de culture cellulaire typique commence par la décongélation d'un flacon de banque de cellules cryopréservées, suivie d'expansions successives dans des récipients de culture plus grands, tels que des flacons à agitation, des centrifugeuses, des sacs Wave et des bioréacteurs à agitation.

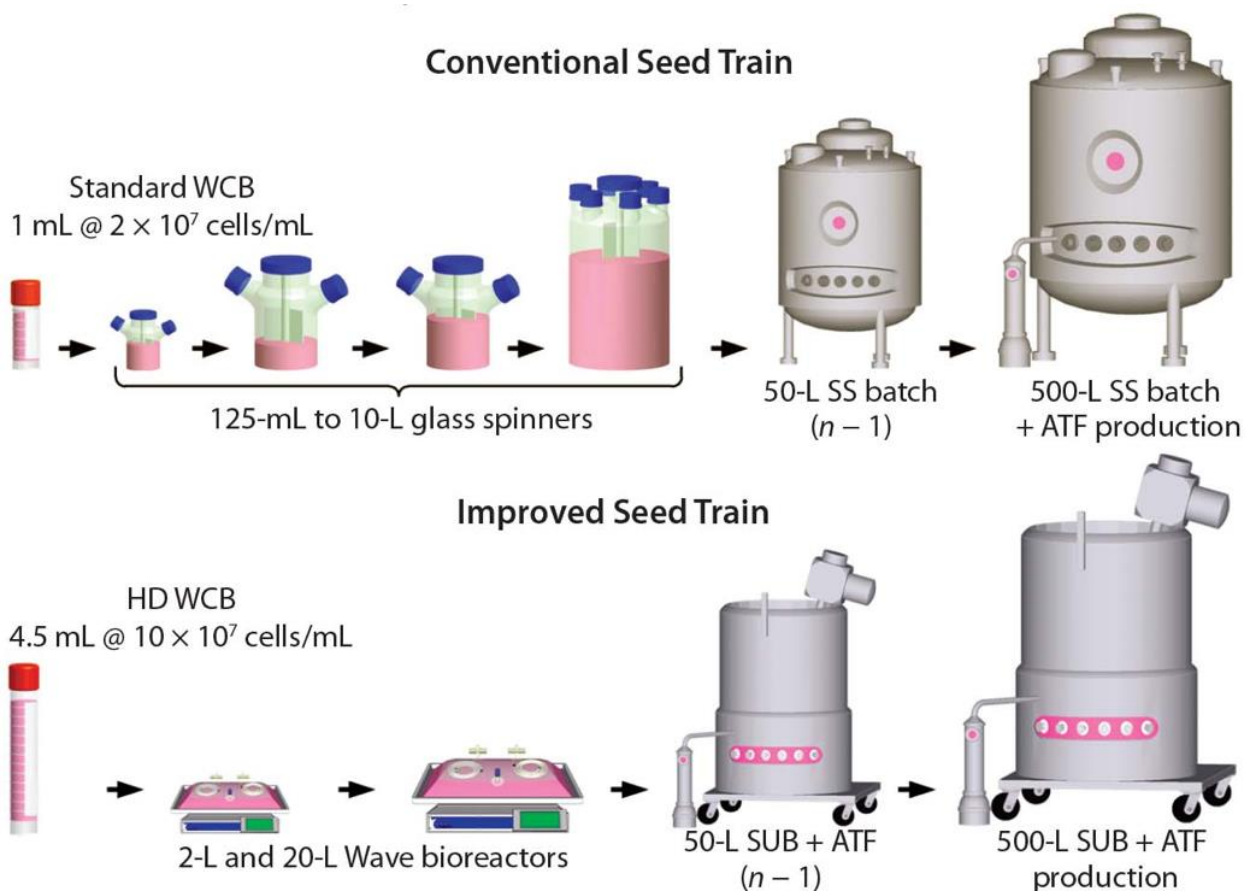
Cette approche présente plusieurs défis : Les flacons agités ou les centrifugeuses utilisées dans les étapes initiales nécessitent des manipulations manuelles à l'intérieur d'une hotte à flux laminaire, ce qui les rend vulnérables à la contamination et aux erreurs de l'opérateur. En outre, étant donné qu'un flacon cryoconservé contenant une banque de cellules conventionnelle contient généralement un faible nombre de cellules, le processus d'ensemencement prend du temps. Il prend plus de temps et devient encore plus complexe avec des bioréacteurs de production beaucoup plus grands, car des récipients de culture supplémentaires de grand volume sont nécessaires pour soutenir la mise à l'échelle d'un bioréacteur de production. Enfin, les bioréacteurs de production étant généralement inoculés à une densité de $<0,5 \times 10^6$ cellules viables/ml, cela nécessite également une phase de croissance nécessaire de 5 à 10 jours, ce qui est fondamentalement défavorable puisque, pendant cette période, les concentrations de cellules sont plutôt faibles (tout comme le rendement initial du produit).

Des études antérieures ont montré que les banques de cellules à haute densité (HD) peuvent être efficaces pour réduire le nombre d'étapes nécessaires à l'ensemencement tout en améliorant le succès opérationnel des processus d'ensemencement, à savoir l'utilisation de banques de cellules HD contenant 450 millions de cellules viables/flacon pour inoculer directement un sac Wave de 20 litres. Une étude en particulier a révélé que l'utilisation de banques de cellules HD permettait d'éliminer plusieurs étapes intermédiaires d'expansion en flacon secoué, réduisant ainsi la durée du processus jusqu'à neuf (9) jours.

Une autre étude a combiné les banques de cellules HD avec un bioréacteur à semences unique capable de fonctionner à plusieurs volumes de travail, réduisant ainsi la durée d'expansion des semences de 60 à 70 %.

La technologie à usage unique offre en fait de nombreux avantages par rapport aux systèmes en acier inoxydable, notamment une plus grande flexibilité des installations, un gain de temps dans la mise en place, le nettoyage et la stérilisation, sans oublier une réduction de l'investissement en capital. Les bioréacteurs à ondes jetables sont donc fréquemment utilisés dans les processus d'expansion des semences, car ils réduisent également le risque de contamination (ne nécessitant généralement aucune manipulation dans des hottes à flux laminaire). Comme ces bioréacteurs sont jetables, aucune ressource supplémentaire encombrante et coûteuse n'est nécessaire pour l'assemblage, le nettoyage ou la stérilisation.

Les procédés de culture cellulaire par perfusion sont de plus en plus demandés dans ce secteur, car les bioréacteurs à perfusion ont permis de fabriquer des produits thérapeutiques commerciaux viables. Les procédés de perfusion permettent d'atteindre des densités cellulaires élevées dans des volumes de bioréacteurs relativement petits et d'éliminer plus rapidement les produits instables des cultures que les procédés plus conventionnels par lots (batch) et par alimentation (feed-batch). En raison des avantages susmentionnés, parmi d'autres, la perfusion est devenue la méthode de production préférée à l'expansion des semences.



L'illustration compare un nouveau processus d'ensemencement utilisant la banque de cellules HD, les bioréacteurs Wave jetables et les technologies de culture cellulaire par perfusion "Alternating Tangential Flow" (ATF) de Refine Technology, par rapport à un processus conventionnel. Un exemple de ce processus pour un bioréacteur à perfusion de production de 500 litres avec un processus de production cellulaire conventionnel.

L'utilisation de l'approche de la banque de cellules HD implique l'élimination de deux étapes intermédiaires de centrifugation, en permettant l'inoculation directe dans un bioréacteur Wave de 2 litres. Le remplacement des centrifugeuses (125 ml à 10 l) par des bioréacteurs Wave (2 l et 20 l) signifie une réduction significative du nombre de manipulations nécessaires dans une **enceinte à flux laminaire (hotte de culture tissulaire)***, améliorant ainsi le succès opérationnel en permettant un fonctionnement en système « fermé ». En outre, l'utilisation de la technologie de perfusion ATF à l'étape n - 1 (bioréacteur de 50 L avec dispositif de perfusion ATF) permet d'obtenir des densités cellulaires $\geq 50 \times 10^6$ cellules viables/ml, ce qui autorise une densité d'inoculation de 5×10^6 cellules viables/ml dans le bioréacteur de production de 500 L, contre $0,5 \times 10^6$ cellules viables/ml dans le procédé de culture cellulaire classique. La densité d'ensemencement plus élevée permet de réduire d'environ cinq jours la phase de croissance du bioréacteur de production de 500 L, ce qui permet de réduire le temps d'utilisation des installations pour un bioréacteur de 500 L fonctionnant pendant 50 jours.

*Une **enceinte à flux laminaire**, ou hotte **de culture tissulaire**, est un banc soigneusement fermé conçu pour empêcher la contamination des plaquettes de semi-conducteurs, des échantillons biologiques ou de tout matériel sensible aux particules.

Le train de bioréacteurs

Les bioréacteurs de Biogen sont organisés en trains, chacun étant plus petit que le suivant. Un train de bioréacteurs est composé de différents volumes :

- 60 litres
- 100 litres
- 235 litres
- 750 litres
- 950 litres.
- 2000 litres
- 3750 litres
- 15000 litres
- 18500 litres



Chaque bioréacteur alimente le suivant. Le train est une continuation du processus de mise à l'échelle qui commence par l'étape de préparation de l'inoculum et se termine généralement par le processus de récolte dans le bioréacteur le plus grand.