

Zellkulturen

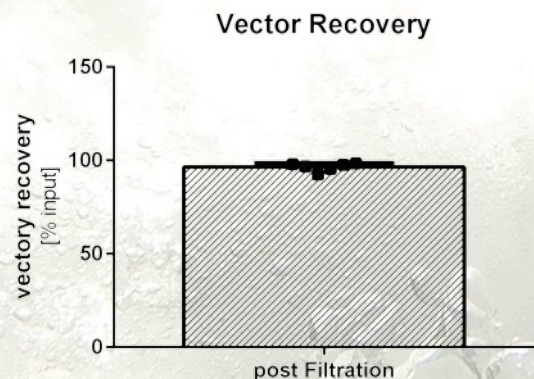
Ausgangslage

Von Adeno-assoziierte Viren (AAV) abgeleitete Vektoren werden zunehmend in Wissenschaft und Forschung als Werkzeug zur gentechnischen Modifikation von Modellorganismen eingesetzt. Um die dabei benötigten Vektoren in ausreichenden Mengen herstellen zu können, sind skalierbare und auf chromatographischen Methoden basierende Prozesse unumgänglich. Dabei werden die Vektoren in Zellkulturen produziert und aus Zellkulturüberständen gereinigt.

Ein wichtiger Schritt ist die Filtration des Zellkulturmediums vor der chromatographischen Weiterverarbeitung. Hierbei kommt es häufig trotz Einsatz von Glasfaser-basierten Vorfiltern zur schnellen Verblockung der PES-Membrane, was lange Filtrationszeiten, erhöhten Aufwand durch Filterwechsel und hohe Kosten mit sich bringt. Bei der Verwendung von Filterhilfsmitteln (z.B. Kieselgur) ist mit hohen Verlusten (>90%) zu rechnen.

Beeindruckende Ausbeute:

In der Grafik wird die Effizienz des Aufbaus deutlich. Mit einem Verlust von <5% ist die Ausbeute unglaublich hoch!



mean recovery $96,6 \pm 2,26$ % input ($\pm$ SD), n = 6

Ziel

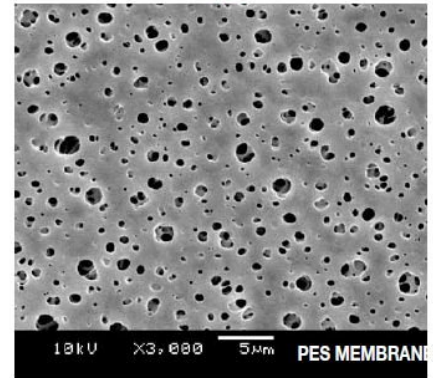
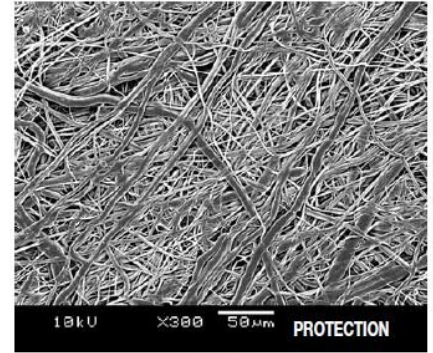
Die Filtration von Zellkulturüberständen im Labormaßstab von bis zu 2 Litern soll möglichst kosteneffizient, schnell und einfach durchführbar sein. Dabei müssen Verunreinigungen, welche die in der Chromatographie eingesetzte Säulenmatrix verstopfen könnten, effizient bei einer Porengröße von 0.45 µm entfernt werden. AAV Vektoren, typischerweise mit einem Durchmesser von etwa 25 nm, sollten dabei verlustfrei die Membran passieren können.

Durch den Einsatz einer speziellen Membranfilterkerze mit Vorfilter und 0,45 µm absoluter Porengröße im passenden adfiltec-Laborgehäuse ist es möglich, in weniger als **einer Minute bis zu 2 Liter** Zellkulturüberstand zu prozessieren. Dabei erlauben die Filterkerzen mit PES-Membran eine beinahe verlustfreie (< 5 % Verlust) und gleichzeitig schnelle (ca. 1 min) Filtration, bei Verwendung nur eines Filtereinsatzes. Die Kosten, die Filtrationszeit und der Arbeitsaufwand werden auf ein Minimum reduziert. Der Rückstand im Gehäuse kann durch eine clevere Modifikation auf wenige Milliliter begrenzt werden.

Das elektropolierte VA-Gehäuse lässt sich sehr leicht reinigen und passt in gängige Autoklaven. Eine Schlauchtülle im Deckel des Gehäuses erlaubt die Zufuhr eines Gases, mit dem der Druck aufgebaut wird, um den Filtrationsprozess durchzuführen. Eine Pumpe, die nach Gebrauch gereinigt werden muss, wird in diesem Aufbau nicht benötigt.

Das sagt ein Kunde aus dem Labor:

„Das Handling ist simpel und die Zeit für die Reinigung ist fast zu vernachlässigen! Mit dem System haben wir eine clevere und durchdachte Lösung gefunden.“



0,45µm PES-Membrane mit integriertem Vorfilter schützt die Membrane vor Verblockung durch Grobanteile

Aufbaubeispiel in einem Labor

