

mgr inż. Kamil Wierchowski

Warszawa, dn 07.06.2023

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej

Politechnika Warszawska

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ
pt. „Zastosowanie bioreaktora z mieszaniem typu *wave*
do intensyfikacji hodowli komórek”

promotor: dr hab. inż. Maciej Pilarek, profesor uczelni

Bioreaktory *single-use* wyróżnia wykorzystanie polimerowych zbiorników (worków) do realizacji bioprocessów. W bioreaktorach z mieszaniem typu *wave* wykorzystuje się mechanicznie indukowane oscylacyjne wychylenia polimerowego zbiornika, które wymuszają falowanie cieczy wprowadzonej do układu, co pozwala na ciągłe odnawianie powierzchni międzyfazowej gaz-ciecz i bezpiecznikowe napowietrzanie pożywek. Bioreaktory z mieszaniem typu *wave* to aparaty polecane do powiększania skali hodowli wglębnych biomasy wrażliwej mechanicznie, czyli np. komórek ludzkich, zwierzęcych, owadzych i roślinnych.

Celem badań była charakteryzacja bioreaktora z mieszaniem typu *wave*, jako aparatu do intensyfikacji hodowli komórek zwierzęcych. Wykorzystano bioreaktor *ReadyToProcess WAVE 25* wyposażony w zbiornik *Cellbag 2L*. Zakres podjętych badań dotyczył charakterystyki wnikania tlenu z fazy gazowej do fazy ciekłej w warunkach mieszania typu *wave*, oraz walidacji bioprocessowej aplikacyjności bioreaktora tego typu do wglębnych hodowli komórek różnych linii: nieadherentnych ludzkich limfocytów HL-60 oraz adherentnych mysich fibroblastów L929 i bydłych chondrocytów CP5.

Wyznaczono wartości objętościowego współczynnika wnikania tlenu po stronie fazy ciekłej ($k_L a$) dla pełnego zakresu parametrów operacyjnych bioreaktora z mieszaniem typu *wave*. Przyjmując metodykę planowania eksperymentu *DoE*, zidentyfikowano istotność statystyczną wpływu parametrów determinujących oscylacyjny ruch zbiornika, tj. kąta (α) i częstotliwości (ω) jego wychyleń, a także objętościowego natężenia przepływu gazu przez zbiornik (Q_G), na wartości współczynnika $k_L a$. Zaproponowano bezwymiarową korelację, określającą wartości współczynnika $k_L a$ dla danych parametrów operacyjnych bioreaktora. Wykazano negatywny wpływ wzrostu lepkości fazy wodnej na wartości współczynnika $k_L a$, szczególnie w przypadku, gdy fazę wodną stanowiła pożywka DMEM suplementowana płodową surowicą bydłą. Wykazano również, że dodatek ciekłego nośnika tlenu (perfluorodekaliny) wywołał zmniejszenie lokalnej prędkości przepływu oraz ograniczył cyrkulację fazy wodnej falującej wewnątrz zbiornika, wywołując tym samym spadek wartości współczynnika $k_L a$ w układzie.

Badany układ bioreaktora z mieszaniem typu *wave* wykorzystano do przeprowadzenia szeregu okresowych hodowli wglębnych komórek ludzkich i zwierzęcych różniących się funkcjonalnością i specyficznością względem adhezji do stałej powierzchni międzyfazowej. Realizacja hodowli limfocytów HL-60, fibroblastów L929 oraz chondrocytów CP5 w warunkach mieszania typu *wave*, pozwoliła zintensyfikować szybkość wzrostu komórek, zwiększyć wydajność proliferacji biomasy oraz utrzymywać jej korzystnie wysoką aktywność metaboliczną. Dla komórek HL-60 oraz CP5 ilościowo zidentyfikowano wpływ parametrów operacyjnych bioreaktora (α oraz ω) na proliferację biomasy i ich aktywność metaboliczną. Najkorzystniejsze warunki wzrostu komórek linii HL-60 i CP5 zaobserwowano dla α równego 6° oraz ω równej 20 min^{-1} . Dla adherentnych komórek L929 i CP5 dobrano mikronośnik powierzchni zapewniający wydajną proliferację biomasy w warunkach mieszania typu *wave*.

Słowa kluczowe: bioreaktor z mieszaniem typu *wave*, współczynnik $k_L a$, limfocyty HL-60, fibroblasty L929, chondrocyty CP5, mikronośniki powierzchni, *ReadyToProcess WAVE 25*

Kamil Wierchowski