1200L 反应器悬浮培养 BHK21 细胞生产口蹄疫病毒技术

一、技术背景

国内口蹄疫布控形势仍严峻，高效、安全的病毒性疫苗是防止口蹄疫情发生的最有效方法。BHK21 细胞是繁殖 FMDV 的理想宿主，国外普遍采用了 2000－5000L 反应器悬浮培养 BHK21 细胞技术生产口蹄疫苗。目前国内主要通过大规模转瓶培养 BHK21 细胞生产口蹄疫苗，仅一家单位已采用上千升反应器悬浮培养 BHK21 细胞生产口蹄疫疫苗。

转瓶培养 BHK21 细胞生产口蹄疫苗工艺，因为每个转瓶均是独立的细胞培养单元，每瓶的细胞质量、病毒产量和滴度都不同，导致疫苗批间差大，隐性污染引起高内毒素，副反应大等缺点。

反应器悬浮培养 BHK21 细胞生产口蹄疫苗工艺，不仅能提高 BHK21 细胞密度，自动监控细胞生长或病毒繁殖时的最适生化条件，提高病毒滴度，而且工艺规模放大相对容易，管道化操作最大可能避免了污染的发生，能显著提高口蹄疫疫苗的质量。

MMBS 已成功开发了 BHK21 反应器悬浮培养基、120L-650L-1200L 反应器悬浮 BHK21 细胞技术、1200L 反应器悬浮培养 BHK21 细胞生产口蹄疫疫苗工艺等关键技术，为反应器生产口蹄疫疫苗的产业化奠定了扎实的技术基础。

二、工艺技术

1200L 反应器悬浮培养 BHK21 细胞生产口蹄疫病毒工艺：利用 BHK21 悬浮培养基从液氮中复苏已适应悬浮培养的 BHK21 细胞株，种子细胞经摇瓶、5L 反应器、120L 反应器和 650L 反应器等逐级放大培养，最后在 1200L 反应器中悬浮培养 BHK21 细胞至合适密度，接种口蹄疫病毒种毒，维持一定的溶氧、pH 值、温度等工艺参数，适时收获一次性收获培养液，制备成苗。

图 1 表示了反应器悬浮培养 BHK21 细胞的照片，细胞密度可以达到 3×10^6cells/ml 左右以上。图 2 表示了悬浮培养的 BHK21 细胞接种口蹄疫病毒 14hr 后的 BHK21 细胞。从反应器中收获上清的口蹄疫病毒抗原量（146S 完整病毒粒子）高于转瓶培养工艺。

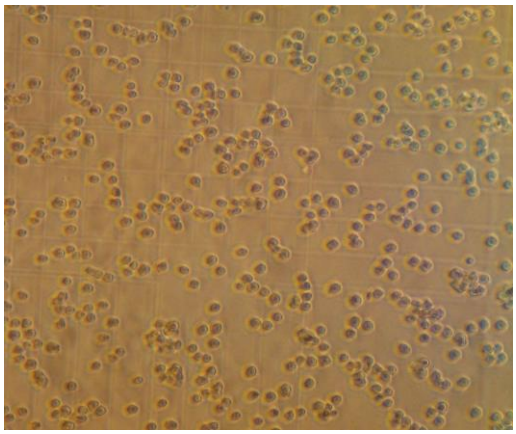


图 1 反应器中悬浮培养的 BHK21 细胞

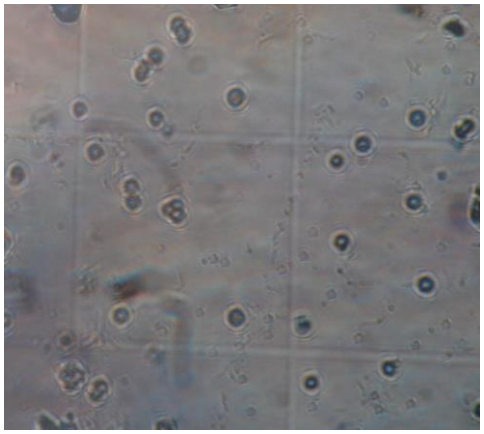
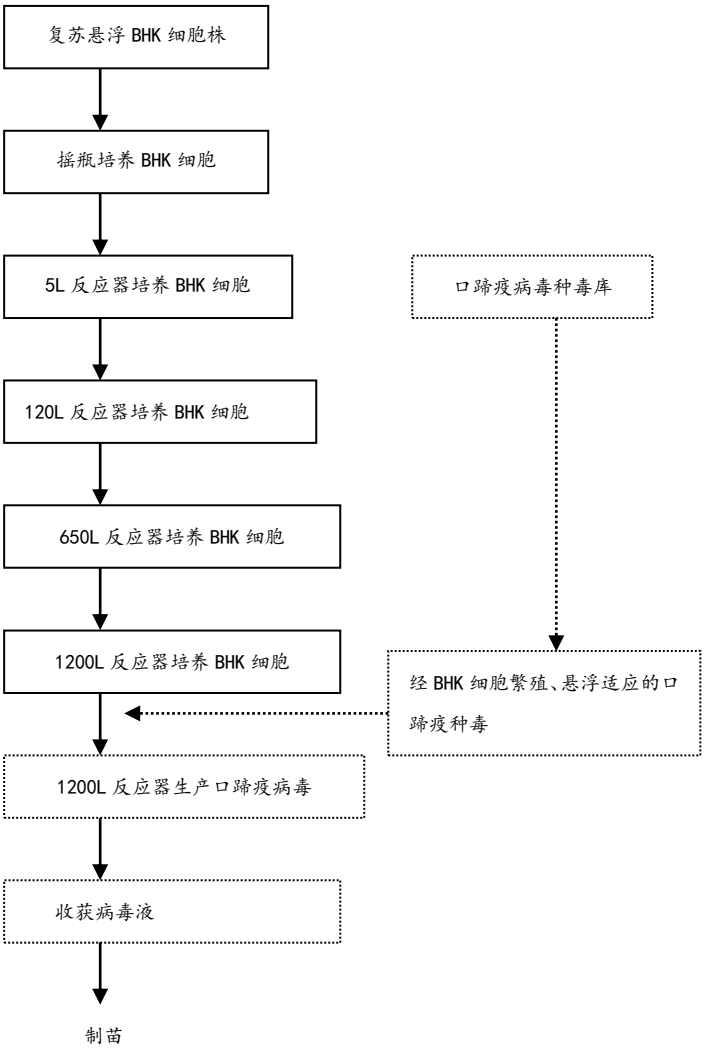


图 2 接种 FMDV 后 14hr 的 BHK21 细胞

三、工艺流程



四、 项目技术资料

1. 1200L 反应器悬浮培养 BHK21 细胞生产口蹄疫病毒总结报告
2. 1200L 反应器悬浮培养 BHK21 细胞生产口蹄疫病毒工艺规程
3. 5L 反应器悬浮培养 BHK21 细胞操作规程
4. 120L 反应器悬浮培养 BHK21 细胞操作规程
5. 650L 反应器悬浮培养 BHK21 细胞操作规程
6. 1200L 反应器悬浮培养 BHK21 细胞操作规程
7. 1200L 反应器悬浮培养 BHK21 细胞生产口蹄疫病毒操作规程
8. 1200L 反应器悬浮培养 BHK21 细胞生产口蹄疫病毒技术要点
9. 各级反应器细胞培养记录
10. 1200L 反应器口蹄疫病毒培养记录