

**Progetto "Creazione di un Centro Nazionale per terapia RNA e Terapia Genica" - CUP E83C22003170001 - Ministero dell'Università e della Ricerca, finanziato con fondi PNRR NextGenerationEU, Missione 4 Componente 2 dalla Ricerca all'Impresa, Investimento 1.4, nell'ambito del Programma di Ricerca "Potenziamento strutture di ricerca e creazione di "campioni nazionale di R&S" su alcune Key Enabling Technologies", approvato con Decreto Direttoriale del Ministero dell'Università e della Ricerca n. 3138 del 16 dicembre 2021, rettificato con Decreto Direttoriale n. 3175 del 18 dicembre 2021.**

Roma, 19 Febbraio 2024

**Oggetto: Relazione di infungibilità n. 3 bioreattori Sartorius, modelli: Biostat® B Twin CC - UniVessel® SU 2L; Biostat® RM 20 L; Biostat STR® 50L; piattaforma MFCS 4**

Si riferisce un'infungibilità tecnica dello strumento, ai sensi dell'art.76, comma 2 lett. b), punto 2 del Dlgs 36/2023, basata sulle seguenti motivazioni.

Lo sviluppo di una piattaforma per la produzione di vettori lentivirali (LVV) è finalizzata ad ampliare la manifattura di nuovi Prodotti Medicinali di Terapia Avanzata (ATMP), principalmente CAR-T, all'interno dell'unità di Terapia Genica dei Tumori dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù (OPBG) nell'ambito del progetto "Creazione di un Centro Nazionale per terapia RNA e Terapia Genica".

Per produrre una quantità di LVV sufficiente a garantire lo svolgimento di trial clinici di fase I e II è necessario un processo di produzione in cellule produttrici in sospensione, per poter essere effettuato agevolmente in larga scala ed incrementare la produttività volumetrica di LVV, con minimo ingombro.

Per l'amplificazione in sospensione delle cellule di packaging che producono le particelle lentivirali, e per condurre lo studio di processo indispensabile alla produzione del vettore LVV, così come nella successiva fase di produzione in un'officina farmaceutica in ambiente classificato, è necessaria una piattaforma di bioreattori con le seguenti caratteristiche:

- Scalabilità: il sistema deve facilitare il trasferimento dei protocolli per una crescita graduale delle dimensioni di produzione, partendo da volumi minimi di 2L di biomassa fino a volumi massimi di 50L. Il sistema deve garantire la definizione di un processo standard validato per l'intera scala di volumi. A tal fine, una caratteristica fondamentale è che la geometria dei bioreattori sia quanto più simile nel modello di scala minima e in quello di scala massima di produzione.
- Velocità nello sviluppo di processo: il sistema deve essere in grado di consentire la messa a punto di più protocolli di produzione di vettori LVV, diversi tra loro, senza utilizzare diversi strumenti (hardware e software) e diversi materiali e accessori a corredo.
- Rischio minimo di stress del prodotto LVV: per tutto il processo produttivo, i materiali dei contenitori utilizzati deve rimanere invariato, al fine di non modificare l'ambiente di espansione della biomassa.
- Gestione dei dati automatizzata: il sistema di bioreazione deve essere gestito da un unico applicativo per l'acquisizione di dati e per il monitoraggio dei trend dei parametri di produzione e dei parametri di validazione del processo, per l'intera scala di volumi;
- Conformità GMP: tutti i dispositivi del processo produttivo (hardware, software, materiali di consumo) devono essere conformi a quanto richiesto in un ambiente GMP.

In particolare, per la conduzione delle attività di progetto, sono stati individuati i bioreattori forniti dall'azienda Sartorius Stedim Italy S.r.l, modello Biostat® B Twin CC - UniVessel® SU 2L; Biostat® RM 20 L; Biostat STR® 50L, e la piattaforma di gestione MFCS 4.

**AREA DI RICERCA ONCOLOGIA E OFFICINA FARMACEUTICA**  
**Responsabile dell'Unità di Terapia genica dei Tumori: Prof. Concetta Quintarelli**

Nello specifico:

- per quanto concerne la scalabilità,
  - o Biostat® B Twin CC - UniVessel® SU 2L: destinato all'impiego nella fase di sviluppo di processo, l'obiettivo è condurre gli studi di scalabilità necessari per ottenere un processo di produzione robusto, applicabile con successo al Biostat STR® Generation 3, con una scala di lavoro massima di 50 L.
  - o Biostat® RM 20 L: da utilizzare durante le fasi di sviluppo e produzione in un ambiente classificato GMP in officina farmaceutica. Questo strumento è fondamentale per condurre studi di scalabilità mirati a raggiungere un processo robusto, necessario per eseguire il piastramento (N-1) nel Biostat STR® Generation 3. L'obiettivo è ridurre al minimo le manipolazioni, garantendo uniformità dei materiali e minimizzando lo stress sulle cellule di packaging per i LVV.
  - o Biostat STR® 50L: destinato alle fasi finali dello sviluppo di processo, e alla fase finale di produzione dei LVV in un ambiente classificato GMP in Officina Farmaceutica.

Il design e la geometria di costruzione dei bioreattori Biostat® B Twin CC - UniVessel® SU 2L e Biostat STR® 50L sono progettati per una perfetta scalabilità. Facendo riferimento alla fig. 1, il rapporto  $h1/D_{max} WV$  (cioè, il volume massimo di riempimento di lavoro) del bioreattore da 2 L è pari a 1,36 e del bioreattore da 50 L è pari a 1,3: le geometrie sono quasi sovrapponibili (scostamento trascurabile del 4%) e quindi è garantita una maggiore capacità di trasferimento dei parametri dei protocolli di produzione.

- per quanto concerne la velocità di sviluppo dei processi, il bioreattore Biostat® B Twin CC - UniVessel® SU 2L (dedicato alle attività di sviluppo dei protocolli) è dotato di una unità di controllo collegata a due reservoir (UniVessel 2L in policarbonato), che consente di eseguire in parallelo due diversi protocolli di produzione di vettori LVV, programmando i flussi e le variabili di crescita di due diversi recipienti. In questo modo è possibile accelerare i test di validazione delle procedure di produzione.
- per quanto concerne l'integrità del prodotto, i supporti monouso da 1L a 50L per l'amplificazione delle cellule di packaging sono realizzati con lo stesso materiale (FlexSafe®), al fine di garantire robustezza e riproducibilità di processo in ogni fase dello sviluppo e diminuendo l'alterazione ambientale di crescita.
- per quanto concerne l'automazione, il software BioPAT® MFCS 4 – proprietario di Sartorius – gestisce tutte e tre le scale di produzione (acquisizione dei valori delle variabili di processo, monitoraggio, controllo e automazione delle variabili) per un maggiore supporto negli studi di scalabilità e quindi di trasferimento dei protocolli nelle varie fasi di produzione. Il software è conforme alla CFR 21 part 11, inoltre è conforme al criterio di Data Integrity (ogni variazione di parametro viene registrata con l'indicazione del profilo dell'utente, data e ora, al fine di tracciare ogni modifica significativa del protocollo). La piattaforma è dotata di modulo di automazione completa del flusso di produzione, per l'intera scala di volume, per il controllo remoto della produzione.
- per quanto concerne la conformità GMP, della strumentazione e dei relativi materiali di consumo prodotti da Sartorius sono disponibili tutte le certificazioni GMP. Questo consente di ottenere un trasferimento tecnologico ottimale per la fase di produzione GMP e un prodotto finale con la massima qualità.

## Geometrical Similarity From UniVessel® to Biostat STR® 2000L

	UniV_su 2L	UniV_g 1L	UniV_g 2L	UniV_g 5L	UniV_g 10L	STR 50L	STR 200L	STR 500L	STR 1k	STR 2k
Total volume (L)	2.6	1.6	3	6.6	13	68	280	700	1300	2800
Max. Working Volume (L)	2	1	2	5	10	50	200	500	1000	2000
Min. Working volume (L)	0.6	0.4	0.6	0.6	1.5	12.5	50	125	250	500
Vessel height (mm) H	240	177	240	350	470	666	1055	1467	1800	2330
Vessel diameter (mm) D	130	110	130	160	190	370	585	815	997	1295
Liquid height max. (mm) h1	177	110	170	255	360	480	783	1005	1360	1670
Ratio h1:D max WV	1.36	1.0	1.3	1.6	1.9	1.3	1.3	1.2	1.4	1.3
Ratio H:D total volume	1.84	1.6	1.8	2.2	2.5	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
Impeller diameter Rushton (mm)	-	45	53	64	75	145	225	310	379	492
Impeller diameter 3-blade seg. (mm)	54	48	54	70	78	145	225	310	379	492
Vessel impeller Ratio d2/D	0.42	0.41	0.42	0.44	0.41	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38
(Ring) Sparger Diameter (mm)	L-sparger	43	43	50	80	120	158	196	234	311
Number & hole size rings. (mm)	14 / 0.5	14 / 0.5	14 / 0.5	14 / 0.5	14 / 0.8	5 / 0.8	20 / 0.8	50 / 0.8	100 / 0.8	200 / 0.8
Number & hole size micros. (mm)	-	N.A. / 0.02	N.A. / 0.02	N.A. / 0.02	N.A. / 0.02	25 / 0.15	100 / 0.15	250 / 0.15	500 / 0.15	1000 / 0.15
Distance between impellers (mm) Δz	70	flex	flex	flex	flex	186	300	403	493	640

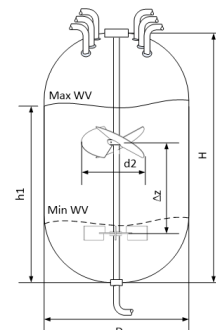


Figura 1-Similarità geometrica dei Bioreattori Sartorius: nell'immagine sono selezionati i modelli dalla scala minima alla scala massima applicabile per le attività progettuali.



Responsabile di UNITÀ DI RICERCA TERAPIA GENICA DEI TUMORI  
Responsabile di ' OPERATIVA SEMPLICE TERAPIE CELLULARI INNOVATIVE  
Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

Prof Concetta Quintarelli  
Bambino Gesù Children's Hospital  
Via Ferdinando Baldelli, 38  
00146 Rome, Italy  
conchetta.quintarelli@opbg.net  
tel: +390668593962