

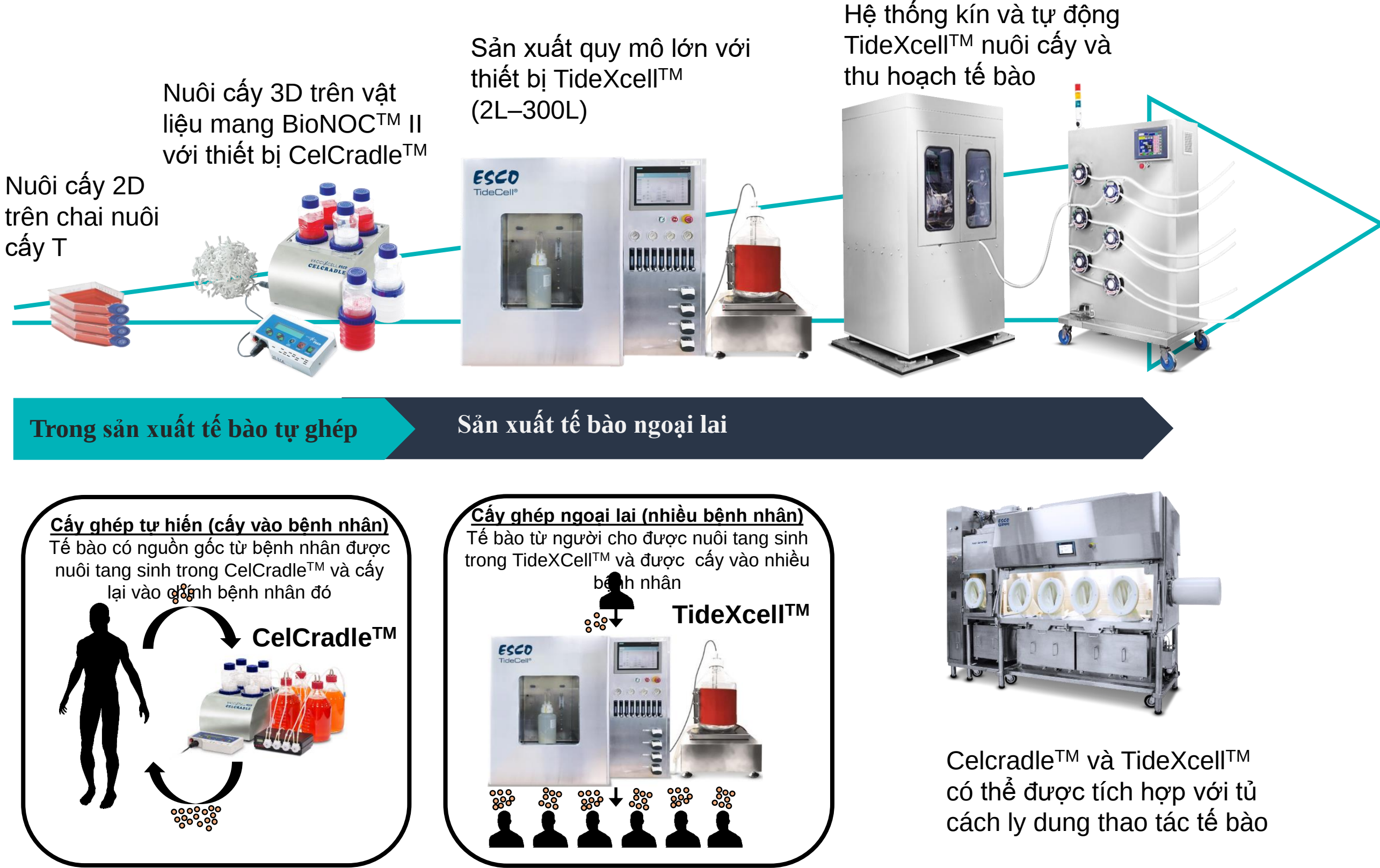
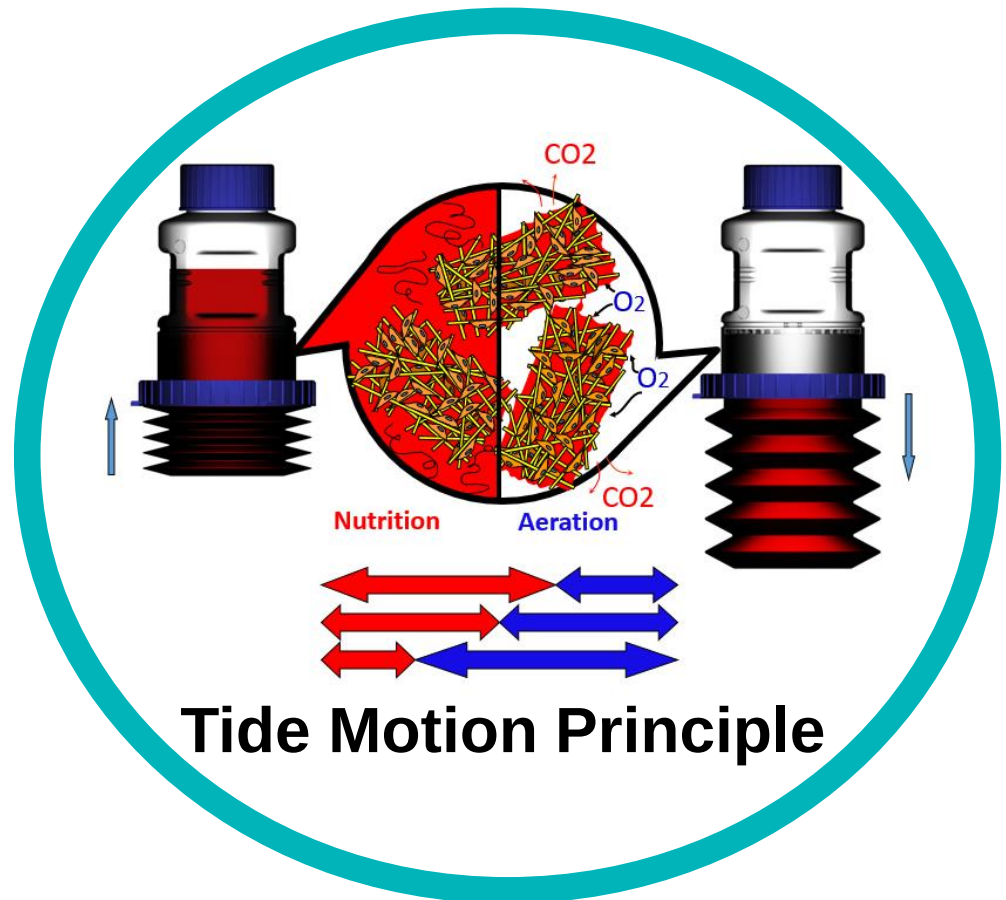
Tối ưu hóa mở rộng quy mô nuôi cấy tế bào gốc trung mô trên thiết bị nuôi cấy 3D Tide Motion

Geraldine Giap Ying Chiew, Jia Xing Ng, Alan Tin-Lun Lam, Jonathan Han Wei Lim, Shao Liang Lim, Xiangliang Lin

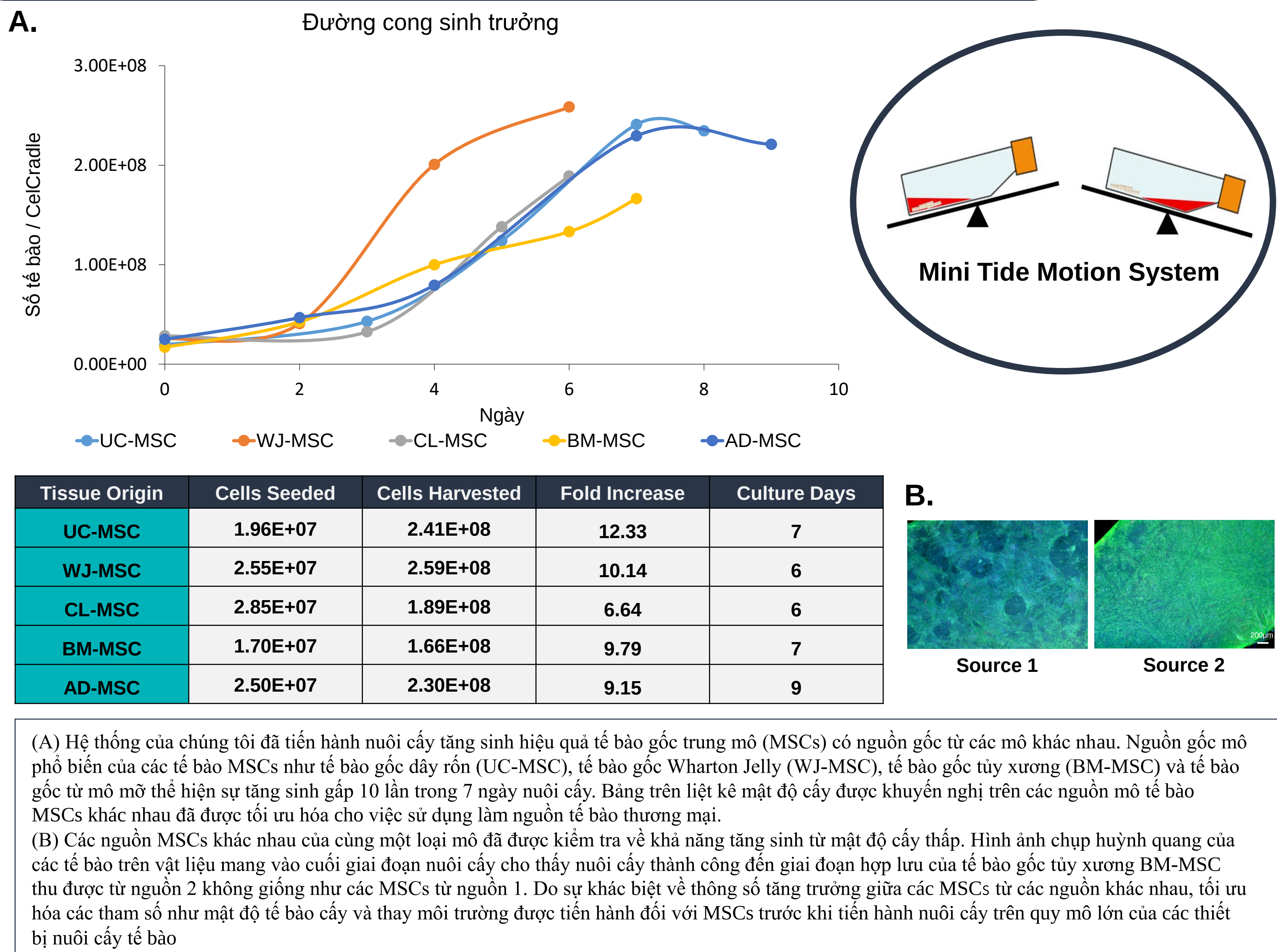


Giới thiệu

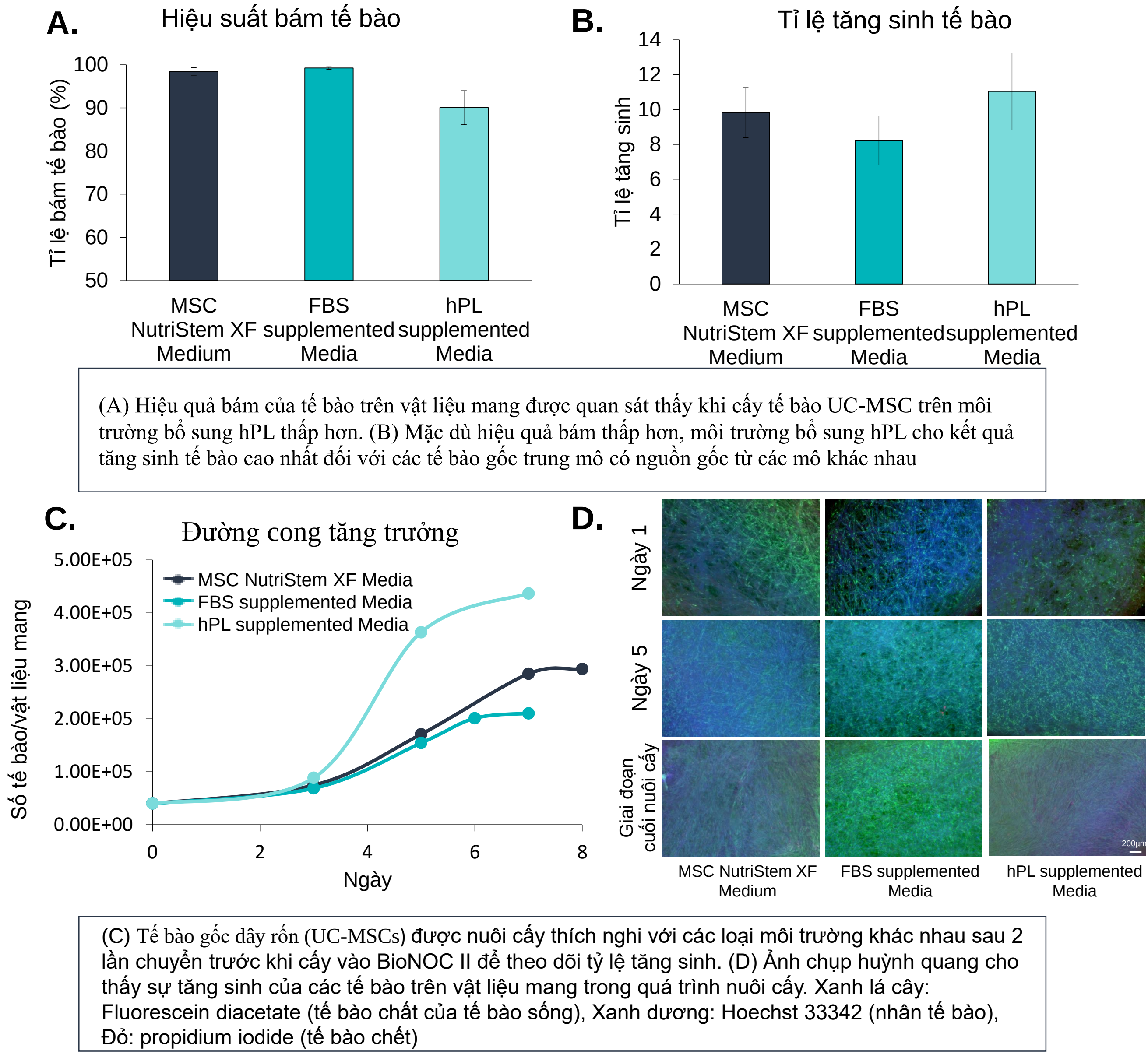
Liệu pháp tế bào trong tương lai đòi hỏi số lượng lớn tế bào gốc trung mô (MSCs) dao động từ 10 triệu đến hơn 200 triệu tế bào mỗi liều. Việc nuôi tăng sinh tế bào gốc trung mô MSCs trên vật liệu nhựa trở nên không phù hợp khi lượng tế bào yêu cầu trên 50 triệu tế bào. Việc sử dụng các thiết bị nuôi cấy tế bào (bioreactor) kết hợp khả năng mở rộng quy mô, kiểm soát quá trình và tự động hóa là giải pháp chính cho nhu cầu này. Trong nuôi cấy tế bào gốc trung mô (MSCs), các thiết bị nuôi cấy gặp phải các vấn đề phát sinh từ việc cân bằng nhu cầu trộn phù hợp môi trường nuôi cấy với sự cần thiết giảm thiểu ứng suất cắt tế bào cũng như không thể thu hoạch tế bào hiệu quả từ vật liệu mang với năng suất và khả năng sống cao. Nhằm đáp ứng nhu cầu cho các liệu pháp điều trị lâm sàng trong tương lai, Esco Aster đã áp dụng các thiết bị nuôi cấy tế bào TideMotion để thiết lập một nền tảng chắc chắn và có khả năng mở rộng quy mô bằng sử dụng vật liệu mang. Tế bào gốc trung mô được phân lập từ các mô khác nhau được cấy và nuôi tăng sinh trong các vật liệu mang PET. Trong quá trình nuôi cấy, các điều kiện được kiểm soát, với việc đo các thông số như mức tiêu thụ glucose và độ pH nhằm đảm bảo mở rộng quy mô. Các vấn đề chính như mật độ cấy tế bào, điều kiện môi trường nuôi cấy và cải thiện các thông số cần thiết cho một hệ thống tế bào gốc tối ưu đã được nghiên cứu trong hệ thống của chúng tôi. Chúng tôi đưa ra quy trình tối ưu hóa của mình với các kiểm soát chất lượng và đặc điểm quy chuẩn chức năng và kiểu hình nhằm chuyển dịch nghiên cứu và phát triển trong học thuật và công nghiệp sang kinh doanh đối với các thử nghiệm lâm sàng và quá trình thương mại hóa trong tương lai.



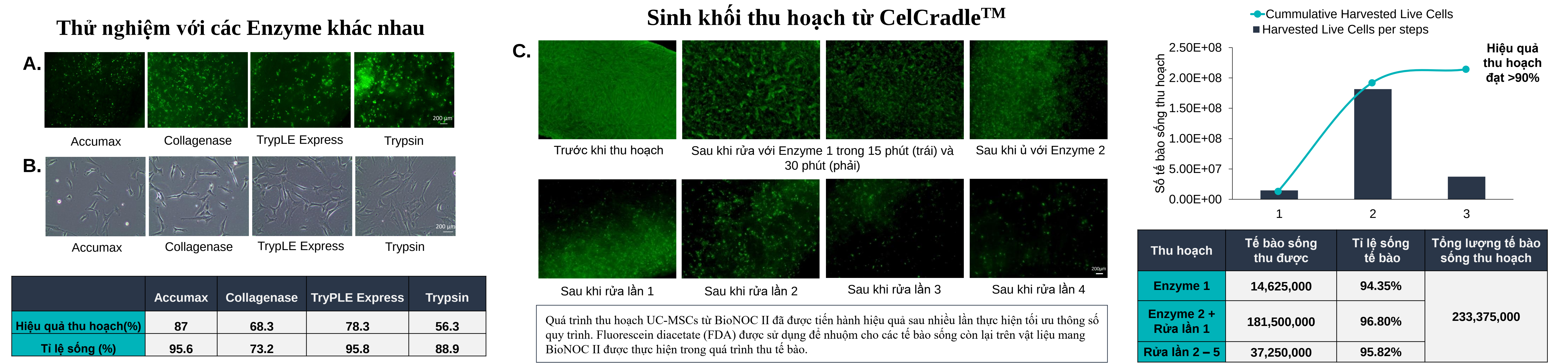
Sinh trưởng của tế bào gốc trung mô MSCs có nguồn gốc từ các mô khác nhau



Tăng sinh MSCs trong các loại môi trường khác nhau



Tối ưu hóa quá trình thu hoạch



Kiểm tra các quy chuẩn

Phân loại	Chỉ tiêu	Phương pháp	Giá trị tham khảo
Số lượng	Đếm số lượng tế bào	Thiết bị đếm tế bào tự động	Phụ thuộc liều trên mỗi lọ (Từ 10 triệu tới 1 tỉ tế bào)
Khả năng sống	Khả năng sống của tế bào	Thiết bị đếm tế bào tự động	>90%
Đặc tính	Karotype	Nghiên cứu tế bào học	Karyotype bình thường
Đặc tính	Hình thái	Quan sát dưới kính hiển vi	Nguyên bào sợi hình thoi
Đặc tính	Khả năng biệt hóa 3 dòng tế bào	Thử nghiệm tính biệt hóa (Biệt hóa mô mỡ, biệt hóa sụn, biệt hóa xương)	Biểu hiện thành công
Đặc tính/ Tính thuần nhất	Quy chuẩn tế bào gốc	Phân tích dấu ấn miễn dịch bằng FACS	≥ 95% CD105, CD73, CD90 ≤ 2% CD34, 45, HLA DR, CD11b, CD19
An toàn	Tiêu chuẩn vô trùng <USP71>	Hệ thống phát hiện vi sinh tự động	Âm tính
An toàn	Mycoplasma <USP63>	PCR	Âm tính
An toàn	Endotoxin <USP85>	Limulus Amebocyte Lysate	<0.25EU/kg
An toàn	Kiểm tra virus (HIV, HBV, HCV, HPV)	Kiểm tra kháng nguyên virus (ELISA)	Âm tính
An toàn	Kiểm tra khả năng hình thành khối u	Kiểm tra hoạt tính enzyme Telomerase	RTA<1.2
Tiềm năng	Thử nghiệm biểu hiện protein cytokine	eg Biểu hiện protein IL-6 (ELISA)	
Tiềm năng	Biểu hiện gene cytokine	eg Biểu hiện geneTNF-α (q-PCR)	
Tiềm năng	Khả năng di chuyển/bám dính của MSC	Thử nghiệm Scratch/Thử nghiệm Transwell	
Tiềm năng	Thử nghiệm miễn dịch	Biểu hiện IDO và thử nghiệm hoạt tính	

Kết luận

- Thiết bị nuôi cấy tế bào Tide Motion bao gồm chuỗi thiết bị tăng dần về quy mô, sử dụng một lần, không có packed-bed (vùng cố định đặt vật liệu mang)
- Hệ thống với tiềm năng sản xuất lượng lớn tế bào gốc trung mô MSC trên mỗi đợt.
- Các hệ thống quy mô nhỏ hỗ trợ các giai đoạn phát triển ban đầu của quá trình chuyển đổi sinh học, cho phép tối ưu hóa các tham số với chi phí thấp.

Yếu tố / Thuộc tính	Biểu hiện của tế bào gốc trung mô MSCs
Loại tế bào	Phù hợp với nhiều mô tế bào có nguồn gốc từ tế bào gốc trung mô MSCs (UC, WJ, BM and AD)*
Gắn tế bào vào vật liệu mang	Hiệu suất cấy tế bào cao >90% Vật liệu mang được bọc Fibronectin, môi trường nuôi cấy không có huyết thanh (phù hợp cho sản xuất cGMP)
Nuôi cấy và theo dõi sinh trưởng tế bào	Dễ dàng nhuộm để quan sát mạng lưới tế bào Hợp lưu tế bào đạt ở ngày nuôi cấy 6-8 mức độ tăng sinh ~10 lần
Thu hoạch tế bào và môi trường	>90% tế bào thu hoạch được khi sử dụng enzyme phù hợp Cho phép thu môi trường trong xử lý exosome và điều chỉnh môi trường
Chất lượng tế bào	Tế bào MSCs thu được duy trì được bản chất tế bào gốc và khả năng biệt hóa 3 dòng tế bào >90% tế bào thu được, tế bào khỏe mạnh sau khi thu hoạch

Lượng tế bào cấy: 2e7 tế bào trên một CelCradle™ thu được 2e8 tế bào
Dự kiến đạt: 4e9 tế bào trên TideXcell™ 2L và 6e11 tế bào trên TideXcell™300L**
*Thông số sinh trưởng của MSCs có nguồn gốc mô khác nhau được lên kế hoạch cho phát triển
**Mật độ cuối cùng sẽ thay đổi dựa trên tuổi và nguồn khác nhau của tế bào gốc và môi trường sử dụng