

GIỚI THIỆU

Tế bào gốc trung mô người (MSCs) nhận được sự quan tâm lớn trong lĩnh vực y tế, là một liệu pháp điều trị tiềm năng và thúc đẩy kỹ nguyên mới trong ngành y học tái tạo. Tuy nhiên, nuôi cấy tế bào trên các đĩa nhựa thông thường và dạng huyền phù rất khó để mở rộng quy mô sản xuất MSCs cho các ứng dụng lâm sàng. Để có thể giải quyết những khó khăn này, Esco Aster đã sử dụng thiết bị nuôi cấy tế bào Tide Motion để có thể mở rộng sản xuất MSCs tuân thủ tiêu chuẩn Thực hành Sản xuất Tốt (cGMP). MSCs được phân lập từ người cho khỏe mạnh đã được nhân rộng trong môi trường nuôi cấy 2D thông thường dành cho tế bào bám dính, được cấy chuyển vài lần trước khi cấy lên các vật liệu mang macrocarrier (BioNOC™ II) trong các chai CelCradle™.

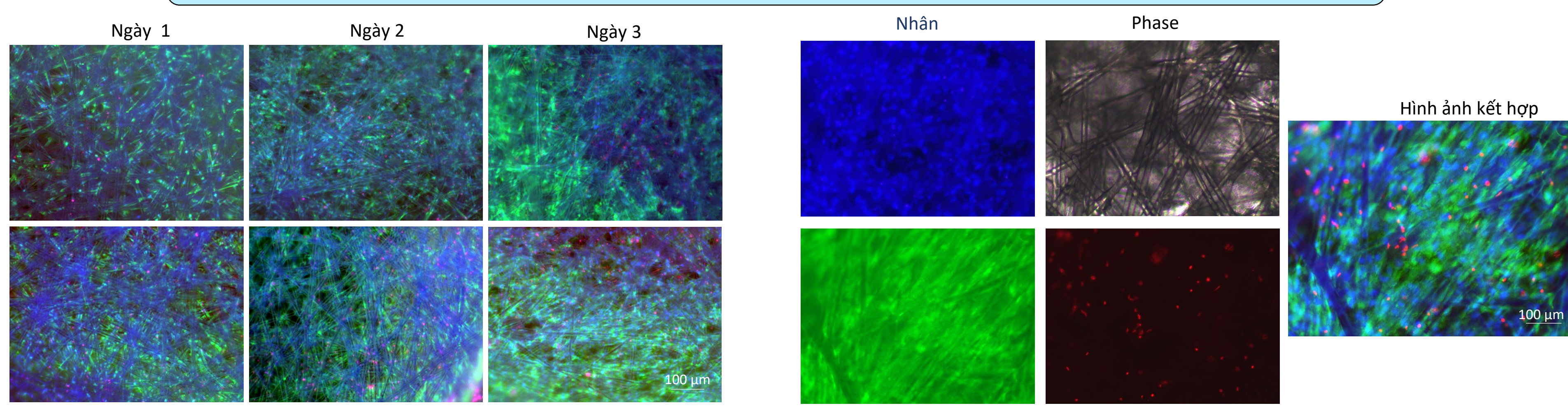
Tế bào sinh trưởng trong môi trường nuôi cấy và thu hoạch với hiệu quả đạt trên 90%, với khả năng sống của tế bào trên 85% sau 5 - 7 ngày nuôi cấy. Theo Hiệp hội Quốc tế Liệu pháp Tế bào (ISCT), các tiêu chí đánh giá chất lượng và quy chuẩn đối với tế bào gốc trung mô (MSCs) được xác định bởi các marker bề mặt và tính biệt hóa đa năng của chúng (sự biệt hóa thành mô mỡ, xương và sụn) được đảm bảo trên 95% MSCs trong nuôi cấy. Điều quan trọng, trong nuôi cấy các tế bào MSCs trên BioNOC™ II thể hiện các đặc tính tương tự như trong *in vivo*, với sự tiết ra các protein chất nền ngoại bào (ECM) và sự thay đổi hình thái nguyên bào sợi. Quy trình hiện tại của chúng tôi dựa trên các thiết bị thao tác sinh học tiêu chuẩn trong hầu hết hợp đồng với cơ sở sản xuất (CMO). Thông qua việc theo dõi và tối ưu hóa các thông số quy trình chính như pH, tốc độ tiêu thụ glucose, chúng tôi hướng đến việc dễ dàng chuyển từ sản xuất quy mô phòng thí nghiệm/nghiên cứu và phát triển công nghiệp sang quy mô thử nghiệm lâm sàng và sản xuất thương mại.

PHÁT TRIỂN QUY TRÌNH



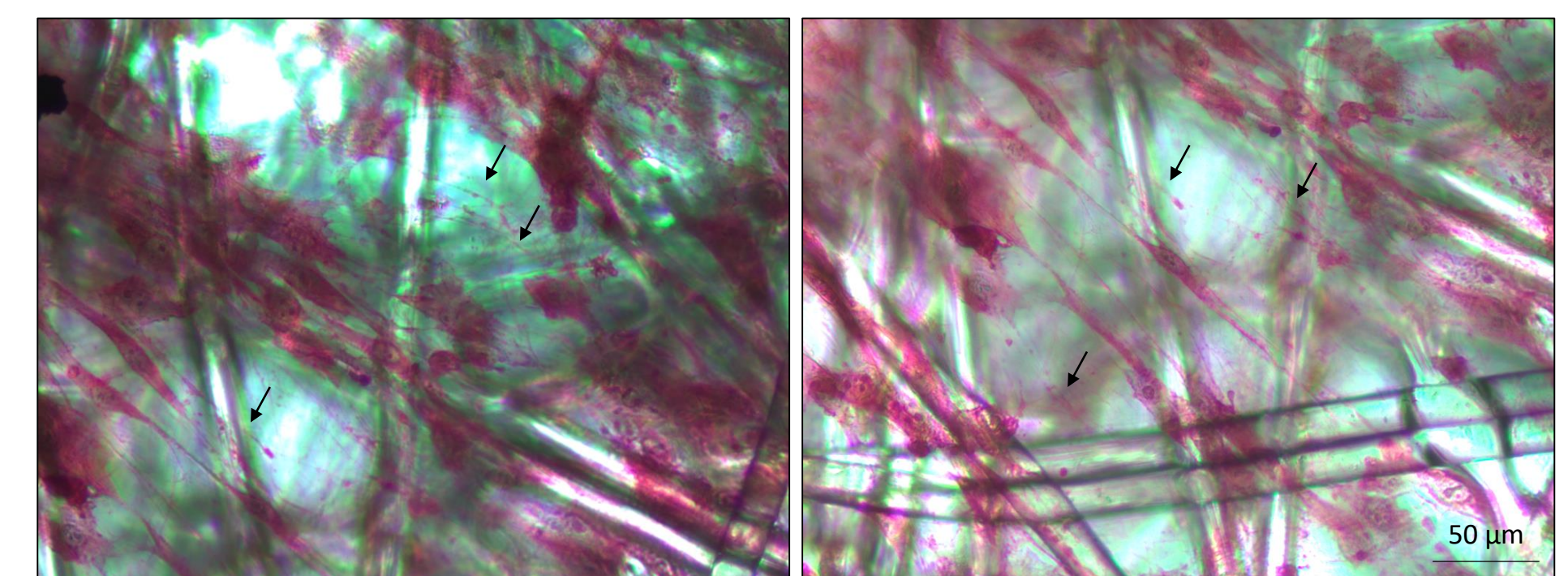
KẾT QUẢ

THEO DÕI SỰ SINH TRƯỞNG CỦA MSCs TRÊN CELCRADLE™

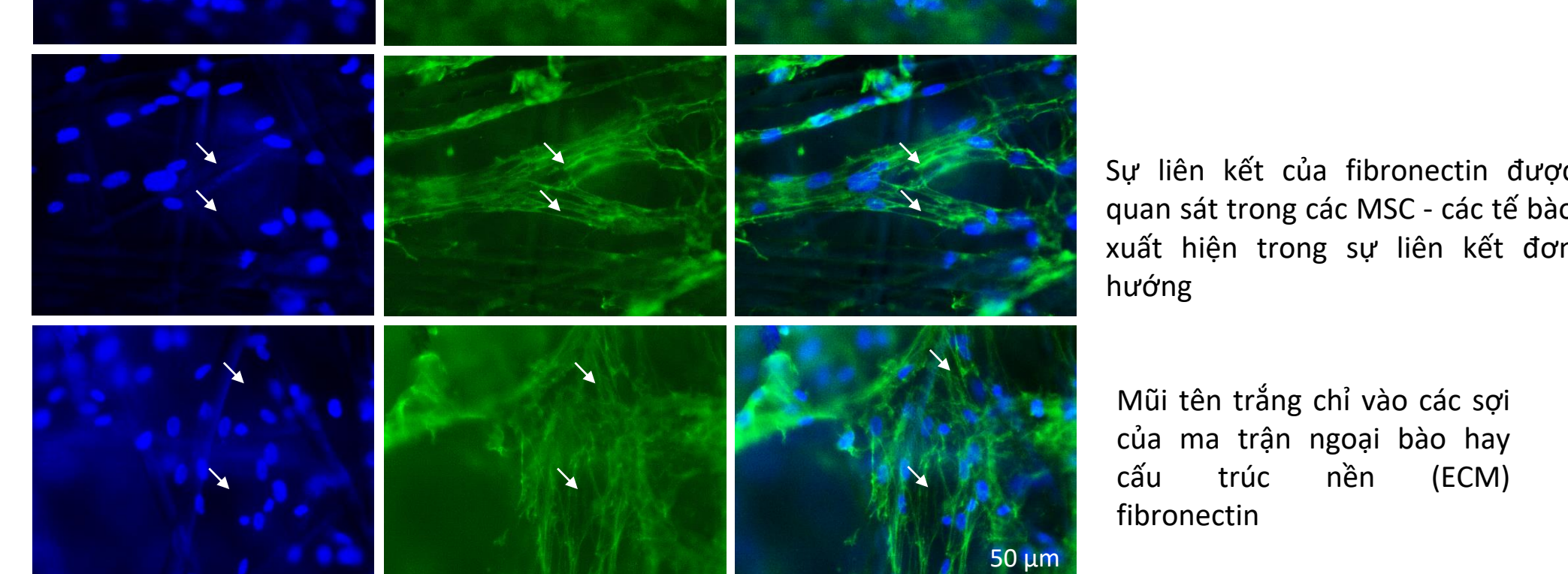


HÌNH THÀNH ECM

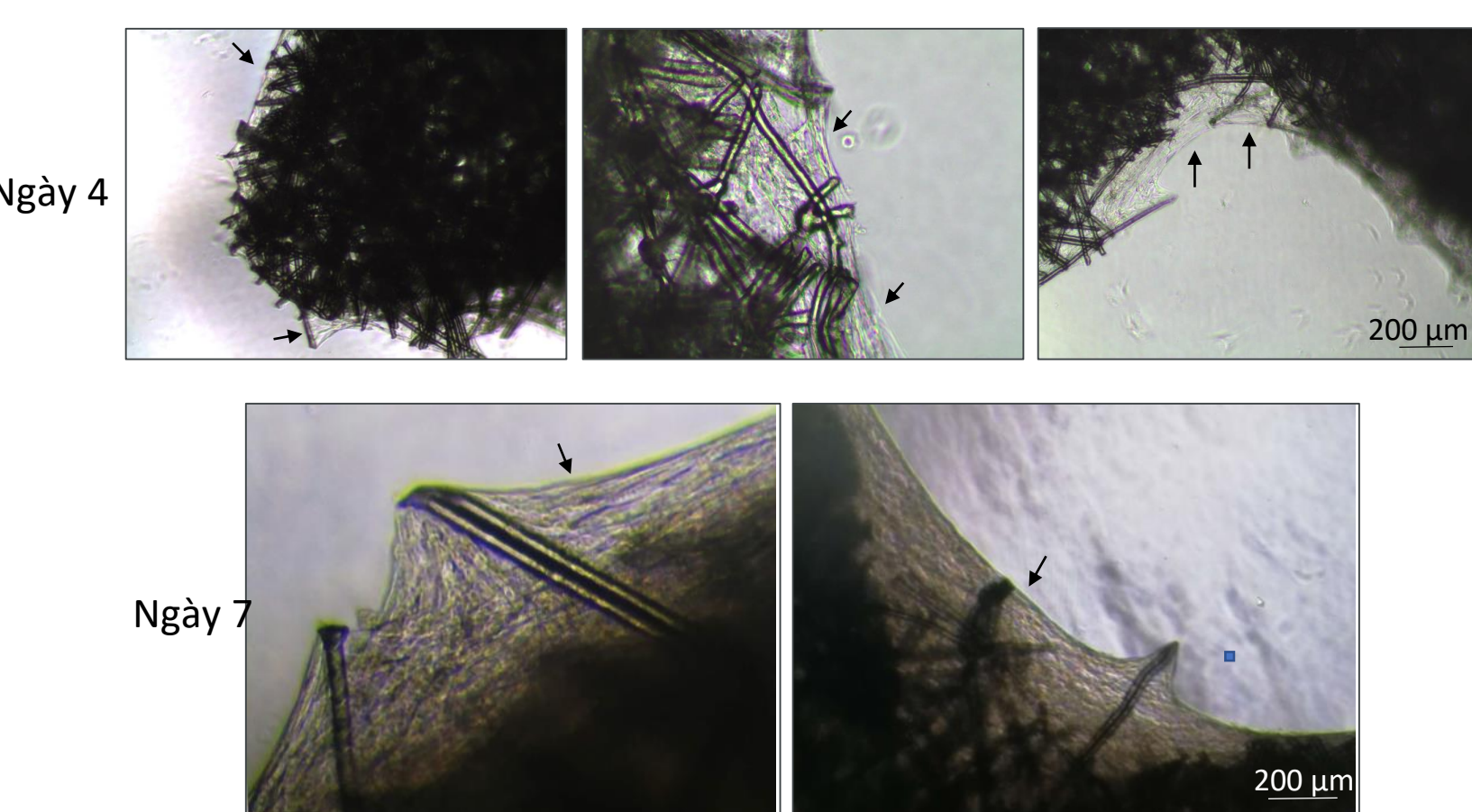
Hình thành mạng lưới ECM Fibril 3D trên BioNOC™ II



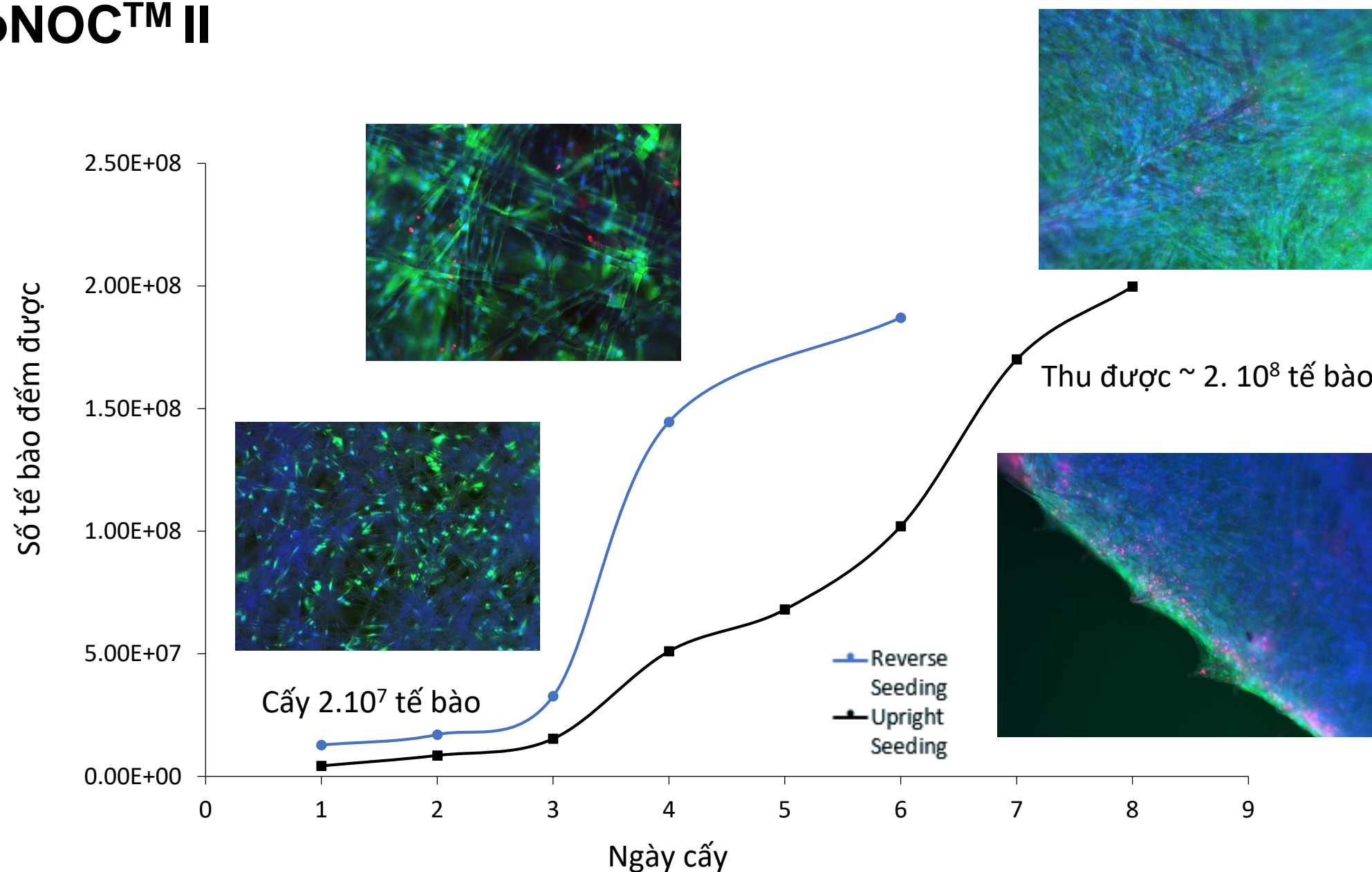
ECM-Fibronectin được tiết ra bởi MSCs



Mức độ che phủ bề mặt cao khi nuôi cấy trên BioNOC™ II

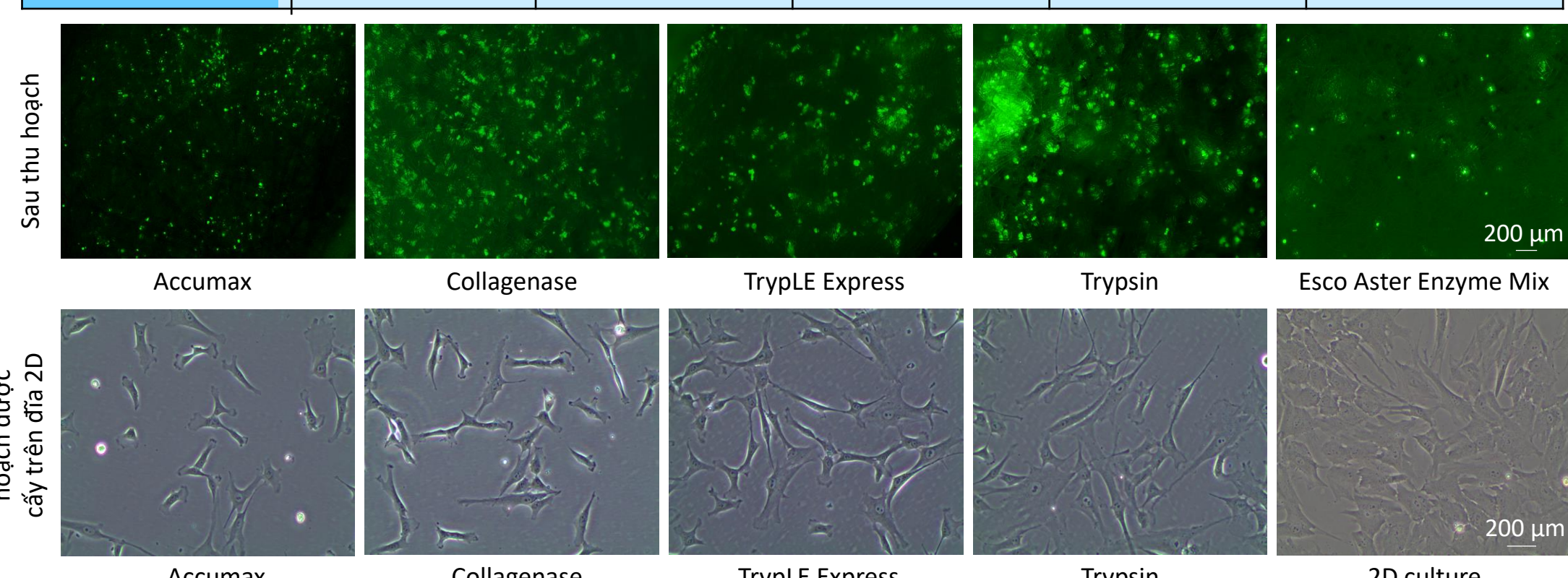


Sinh trưởng tế bào trên CelCradle



THU HOẠCH TẾ BÀO

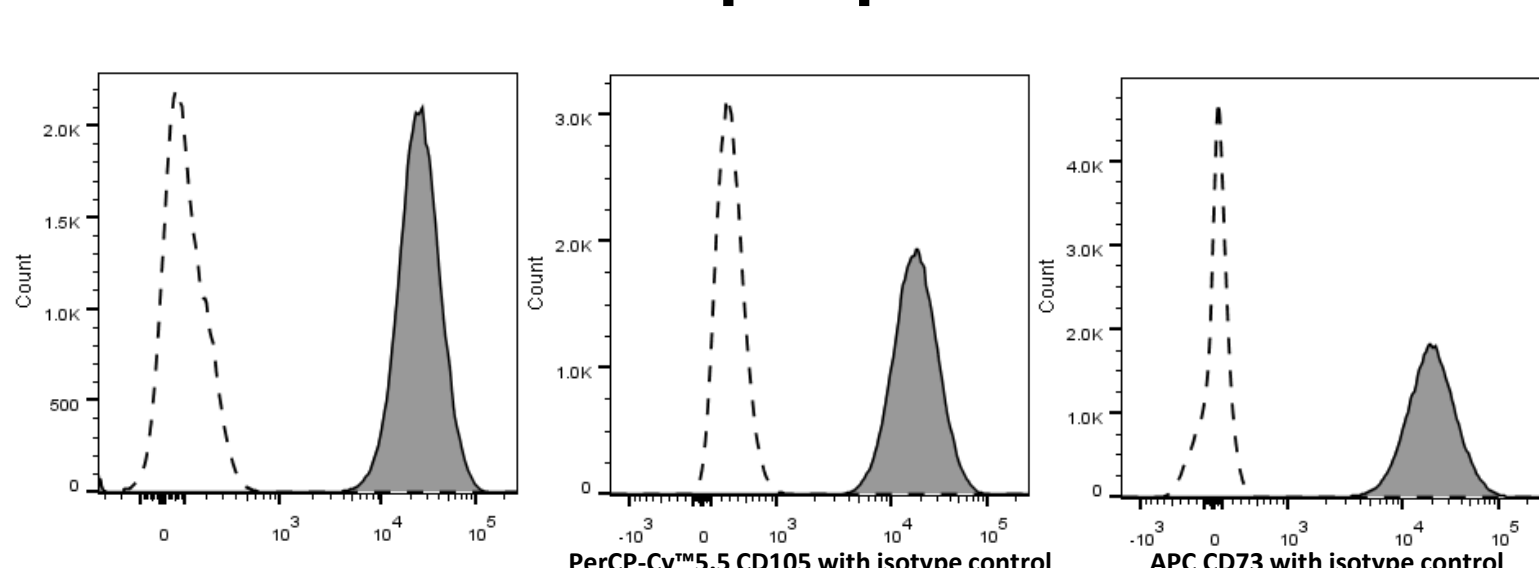
| Enzymes | Accumax™ | Collagenase | TrypLE™ Express | Trypsin | Esco Aster Enzyme Mix |
|--------------------|----------|-------------|-----------------|---------|-----------------------|
| Tế bào thu được(%) | 87 | 68.3 | 78.3 | 56.3 | 91.8 |
| Tế bào sống sót(%) | 95.6 | 73.2 | 95.8 | 88.9 | 93.5 |



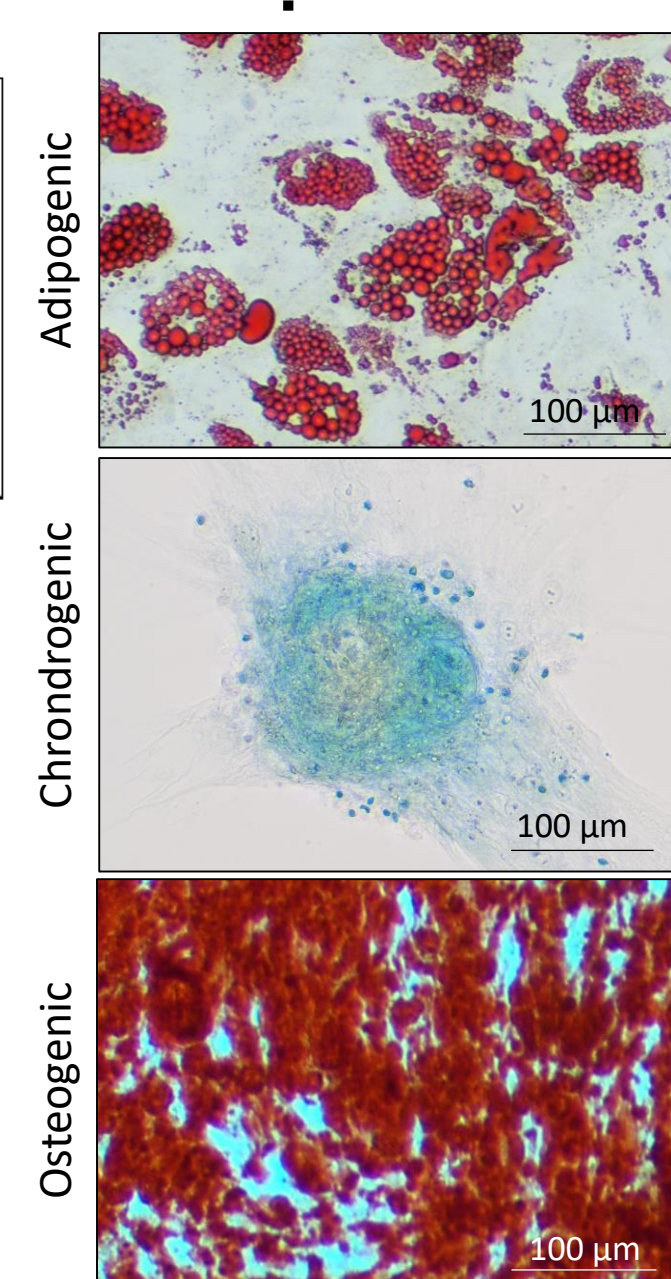
*Hiệu quả thu hoạch khác nhau đối với các loại tế bào gốc khác nhau và các loại enzyme được sử dụng

Đánh giá chất lượng và quy chuẩn của tế bào gốc

Mật độ tế bào



Tính biệt hóa đa năng



CL-MSCs thu hoạch từ BioNOC II tại P7

| Name | Statistic | #Cells |
|-----------------------------|-----------|--------|
| Specimen_001_sample_001.fcs | 100000 | |
| P1 | 66.2 | 66207 |
| CD73+ CD90+ | 99.6 | 65923 |
| CD73+ CD105+ | 99.8 | 65789 |
| CD34- CD45- HLA-DR- | 98.5 | 64787 |

98.5% MSCs duy trì bản chất tế bào gốc trong 3D BioNOC II

CONCLUSIONS

- Thiết bị nuôi cấy (sử dụng một lần) cố định, dễ dàng chuyển đổi từ quy mô phòng thí nghiệm sang quy mô công nghiệp
- Đơn giản hóa việc tạo dòng tế bào
- Quy trình tăng sinh của MSCs tuân thủ Nguyên tắc thực hành sản xuất tốt hiện tại (cGMP)

| Yếu tố/Thuộc tính | Biểu hiện của tế bào gốc trung mô MSCs |
|--------------------------------|---|
| Sự bám của tế bào | Hiệu quả cấy tế bào cao > 90% Phù hợp Fibronectin cho môi trường không chứa huyết thanh (thích hợp cho sản xuất cGMP) |
| Sinh trưởng và theo dõi tế bào | Dễ dàng phát hiện tế bào trên chất nền nhuộm tế bào. Sự che phủ bề mặt đạt được vào ngày 5-8 Kiểm soát và theo dõi các tham số trong quá trình thực hiện |
| Thu tế bào | Sử dụng enzyme cung cấp bởi Esco Aster thu được > 90% tế bào |
| Sự tiết ECM | Fibronectin và collagen được nhận thấy nhiều hơn trong điều kiện nuôi cấy in vivo 3D |
| Chất lượng tế bào | Bản chất tế bào gốc và sự biệt hóa thành các nhánh của các MSCs được bảo tồn. > 90% tế bào sống thu được, các tế bào đều khỏe mạnh sau khi thu |

So sánh nuôi cấy 2D và 3D cho CL-MSC @ P6

| | Chai nuôi cấy 2D | 3D BioNOC™ II |
|--------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Hình thái tế bào | Đa diện | Hình thoi, giống nguyên bào sợi |
| Mật độ tế bào | 2.5 triệu tế bào/chai T75 | 2.10 ⁸ tế bào/ CelCradle™ |
| Môi trường sử dụng | 15 ml | 500 ml |
| Số tế bào: thể tích MT | 166,000 tế bào : 1 ml | 400,000 tế bào : 1ml |
| Đề thu 2.10 ⁸ tế bào | 80 chai T75 1200 ml môi trường | 1 CelCradle™ 500 ml môi trường |
| % tế bào duy trì bản chất tế bào gốc | 79% | 98% |

MSCs có thể đạt sự tăng trưởng gấp 10 lần trên CelCradle™

Để thu được 2.10⁸ tế bào, cần chuẩn bị 2-3.10⁷ tế bào cấy trên mỗi CelCradle™. Dự kiến thu được 4.10⁸ tế bào trong TideCell™2L và 9.10¹¹ tế bào trong TideCell™300L

Mật độ cuối cùng sẽ thay đổi dựa trên tuổi, nguồn tế bào gốc và loại môi trường được sử dụng