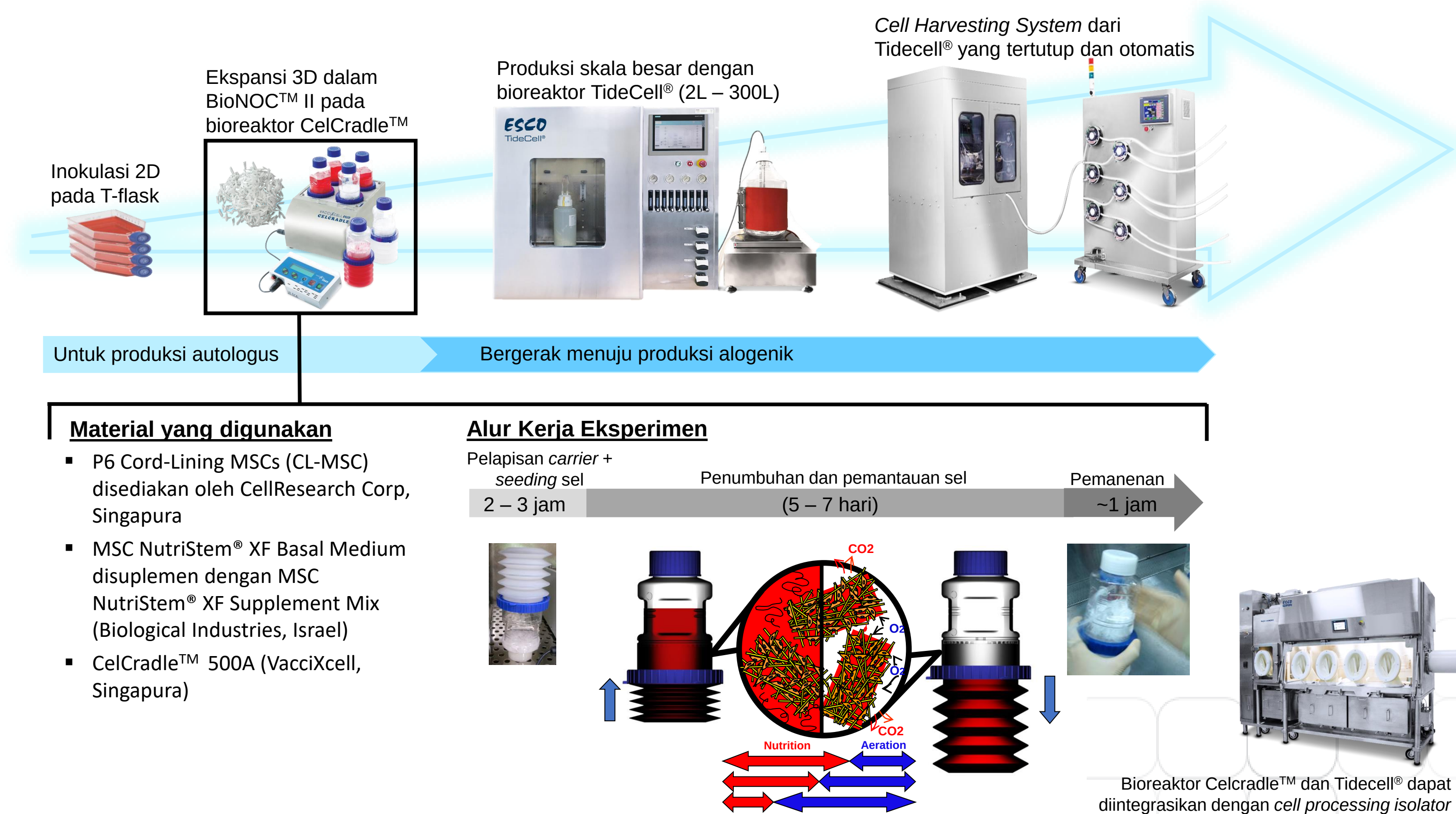


PENDAHULUAN

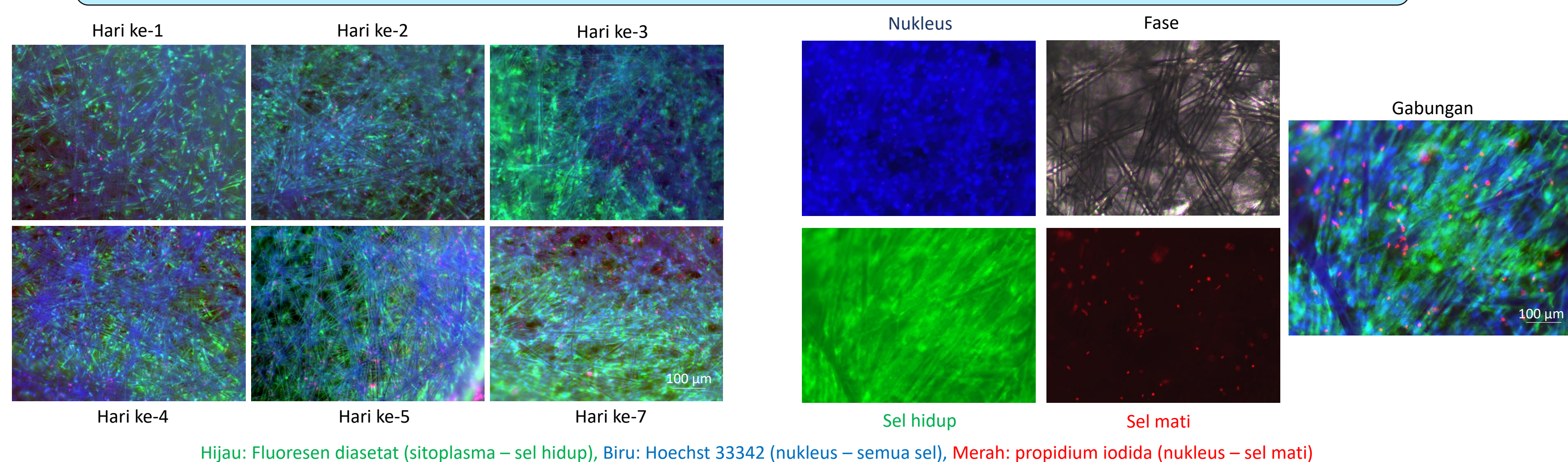
Sel punca mesenkimal manusia (MSCs) telah menarik perhatian dunia medis sebagai salah satu pilihan perawatan baru dan memacu era pengobatan regeneratif. Namun, kultivasi secara konvensional menggunakan wadah plastik dan suspensi memiliki kesulitan dalam peningkatan skala produksi MSCs untuk aplikasi klinis. Untuk mengatasi hal ini, Esco Aster menggunakan bioreaktor Tide Motion untuk mengembangkan operasi bioproses yang terukur untuk produksi MSCs sesuai dengan *Current Good Manufacturing Practices* (cGMP). MSCs manusia, yang diisolasi dari donor sehat, diekspansi dalam kultur aderen 2D konvensional dengan beberapa kali pasase sebelum di-*seeding* kedalam makro-*carriers* (BioNOC™ II) dalam botol CelCradle™. Sel ditumbuhkan dalam *chemically defined media* dan efisiensi panen mencapai lebih dari 90% dengan viabilitas sel lebih dari 85% setelah dikultur selama 5-7 hari. Sesuai dengan *International Society for Cellular Therapy* (ISCT), pengendalian mutu dan kriteria rilis untuk MSCs yang dikarakterisasikan dengan penanda permukaan dan multipotensinya (adipogenik, osteogenik, dan diferensiasi kondrogenik) memastikan lebih dari 95% MSCs terdapat didalam kultur. Yang lebih penting lagi, MSCs yang dikultur pada BioNOC™ II menunjukkan karakteristik *in vivo* yang serupa, dengan sekresi protein matriks ekstraselular (ECM) dan perubahan morfologi fibroblastik. Proses yang kami lakukan sangatlah kuat dengan mengandalkan alat bioproses standar yang terdapat pada hampir semua *contract manufacturing facilities* (CMOs). Melalui pemantauan dan optimasi parameter kunci seperti pH dan laju konsumsi glukosa, kami memiliki tujuan untuk secara mudah mengubah produksi skala lab dari skala R&D akademik/industrial menjadi skala *bench/pilot* dari percobaan klinis dan produksi komersial.

PENGEMBANGAN PROSES



HASIL

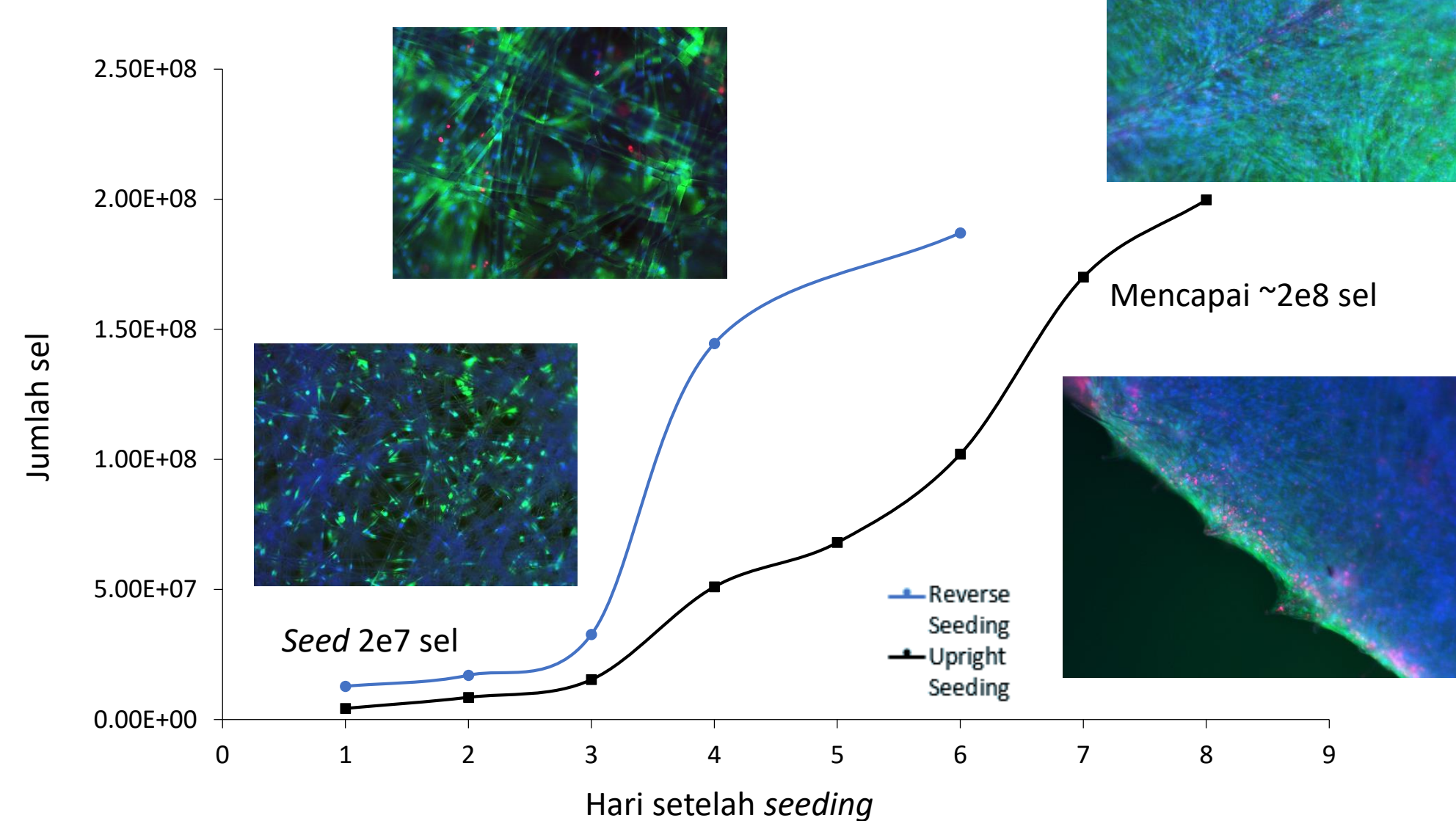
PEMANTAUAN EKSPANSI MSCs DALAM CELCRADLE™



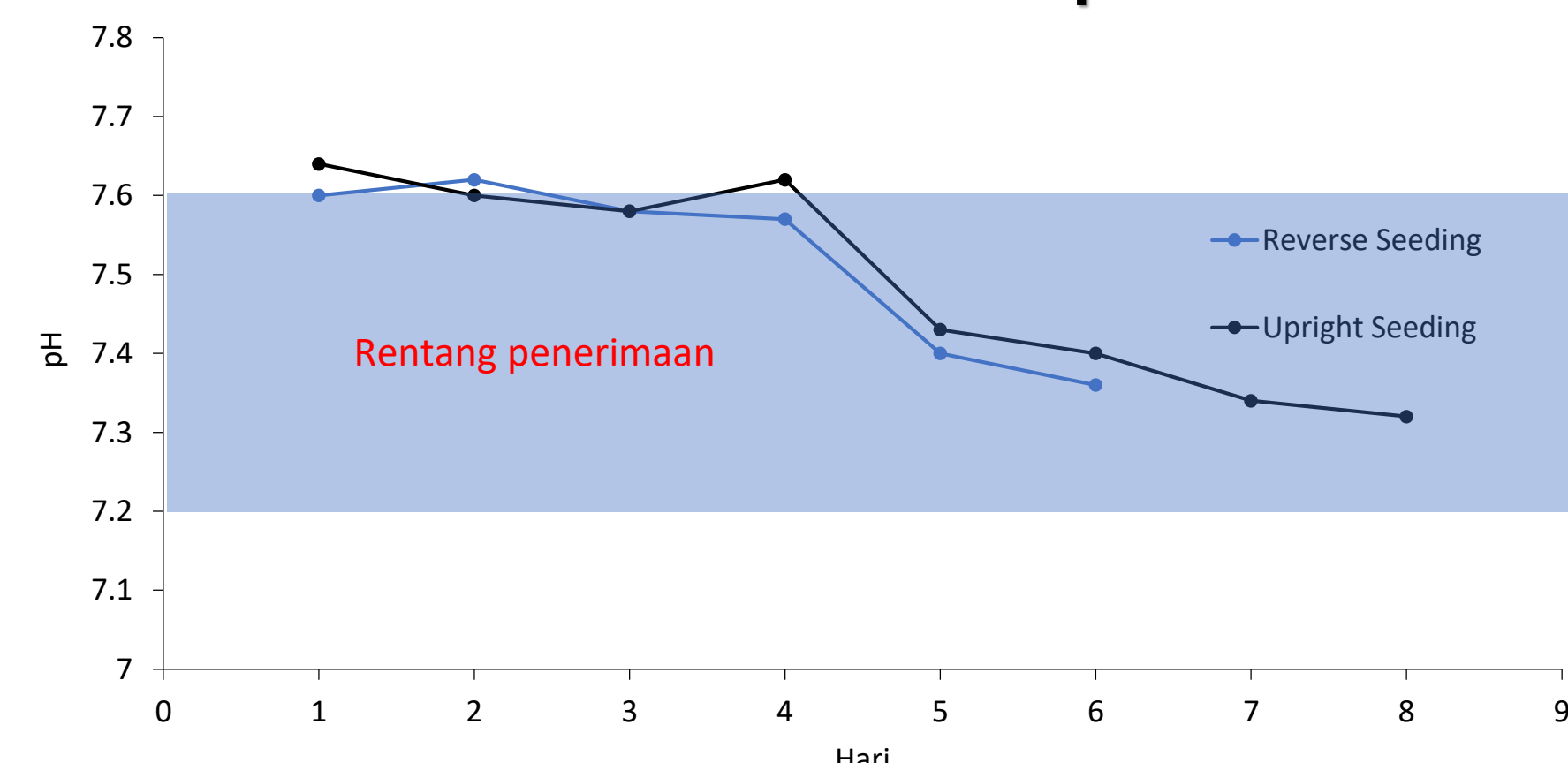
Konfluensi MSCs Tinggi dalam BioNOC™ II



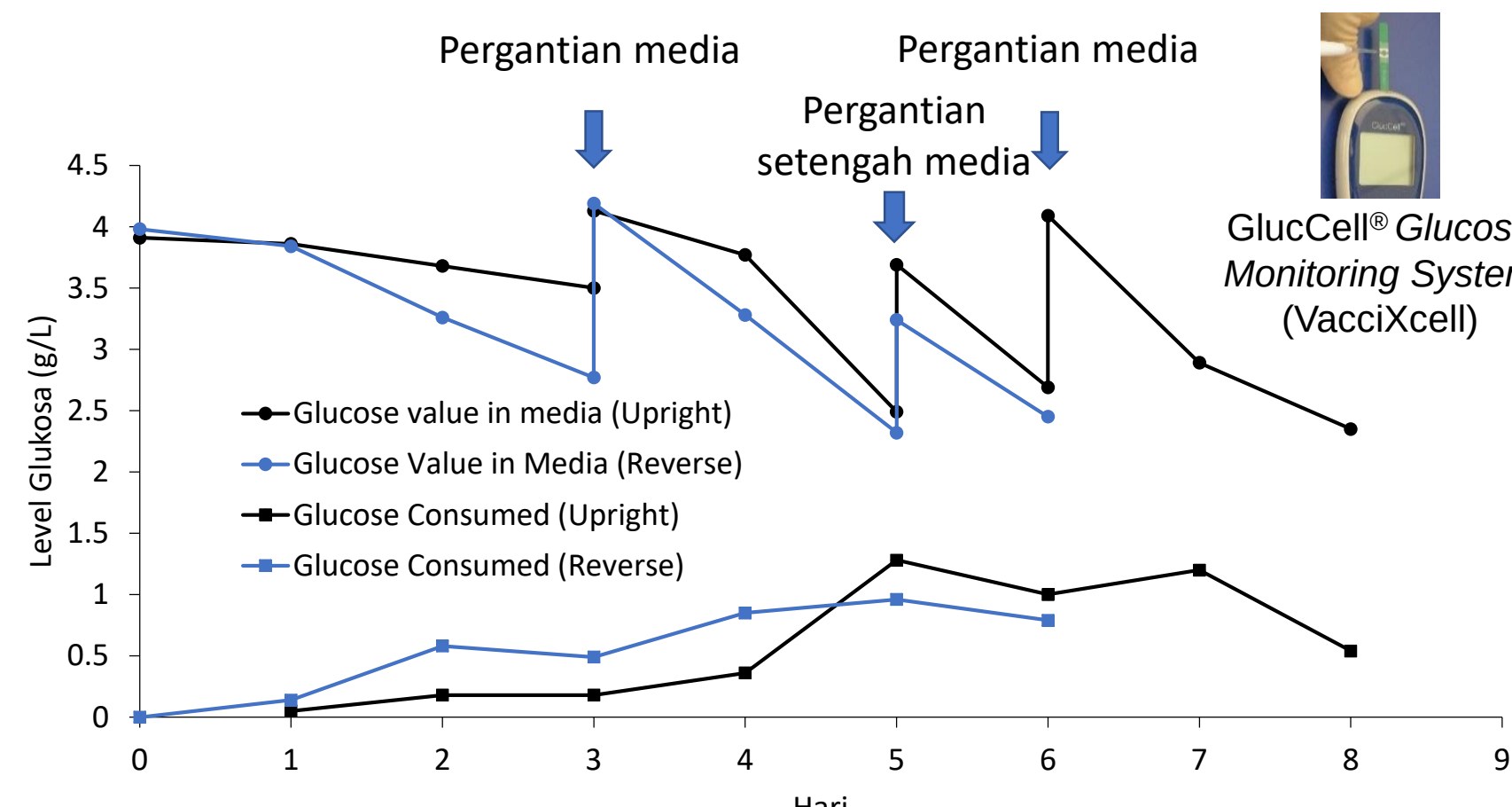
Pertumbuhan Sel dalam CelCradle



Pemantauan pH

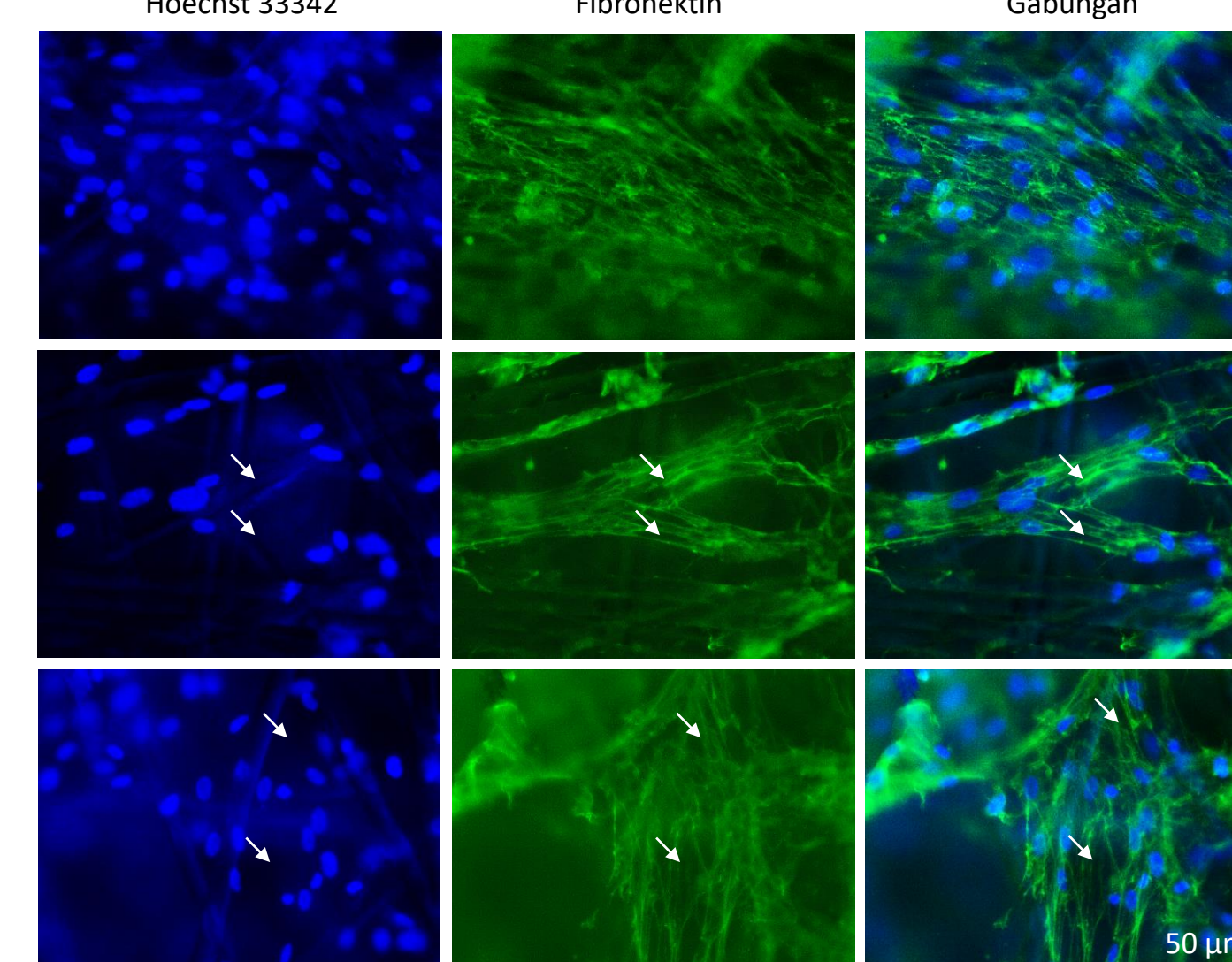
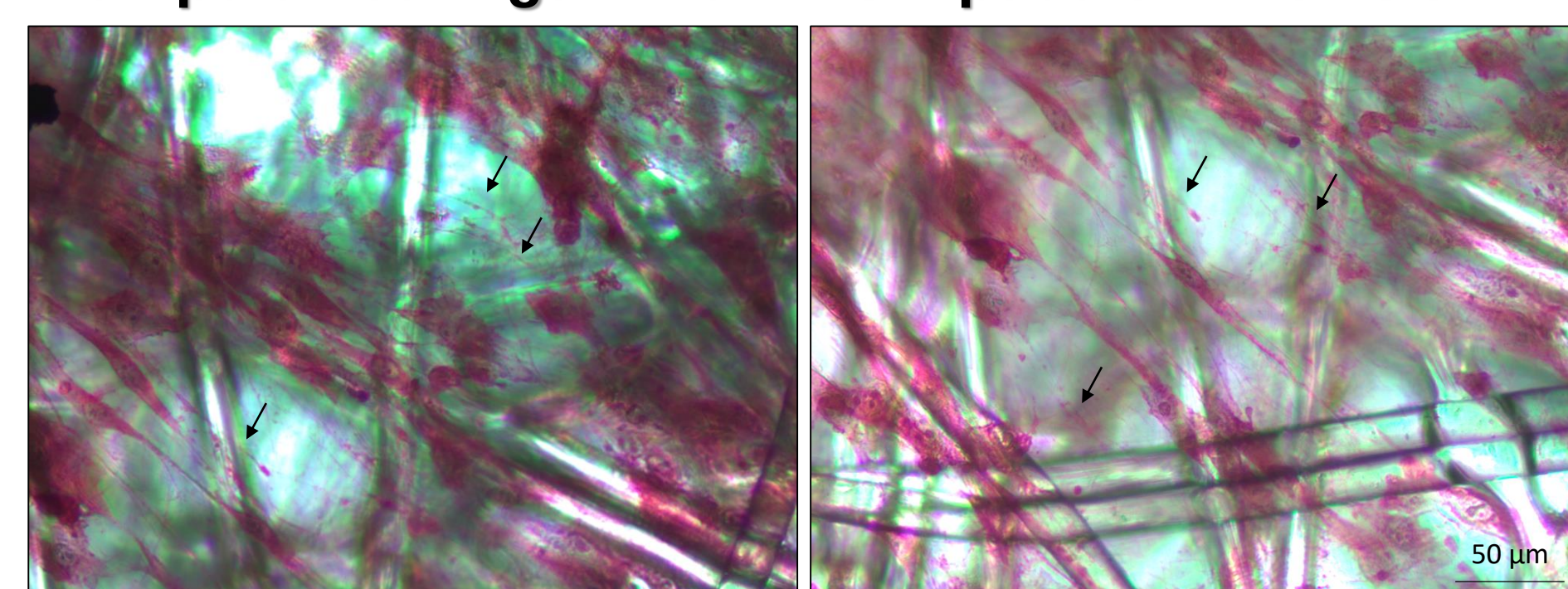


Konsumsi Glukosa



PEMBENTUKAN ECM

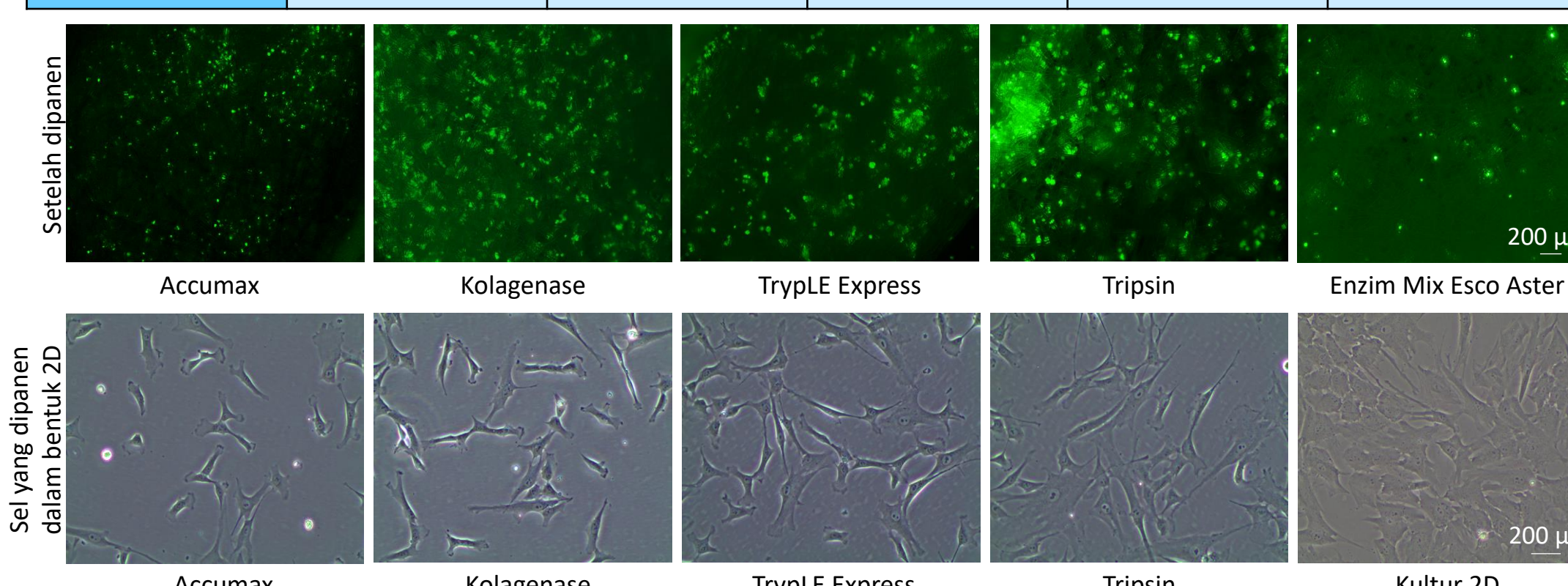
Kumpulan Jaringan Fibril ECM pada 3D BioNOC™ II



Fibronektin ECM yang disekresikan oleh MSCs

PEMANENAN SEL

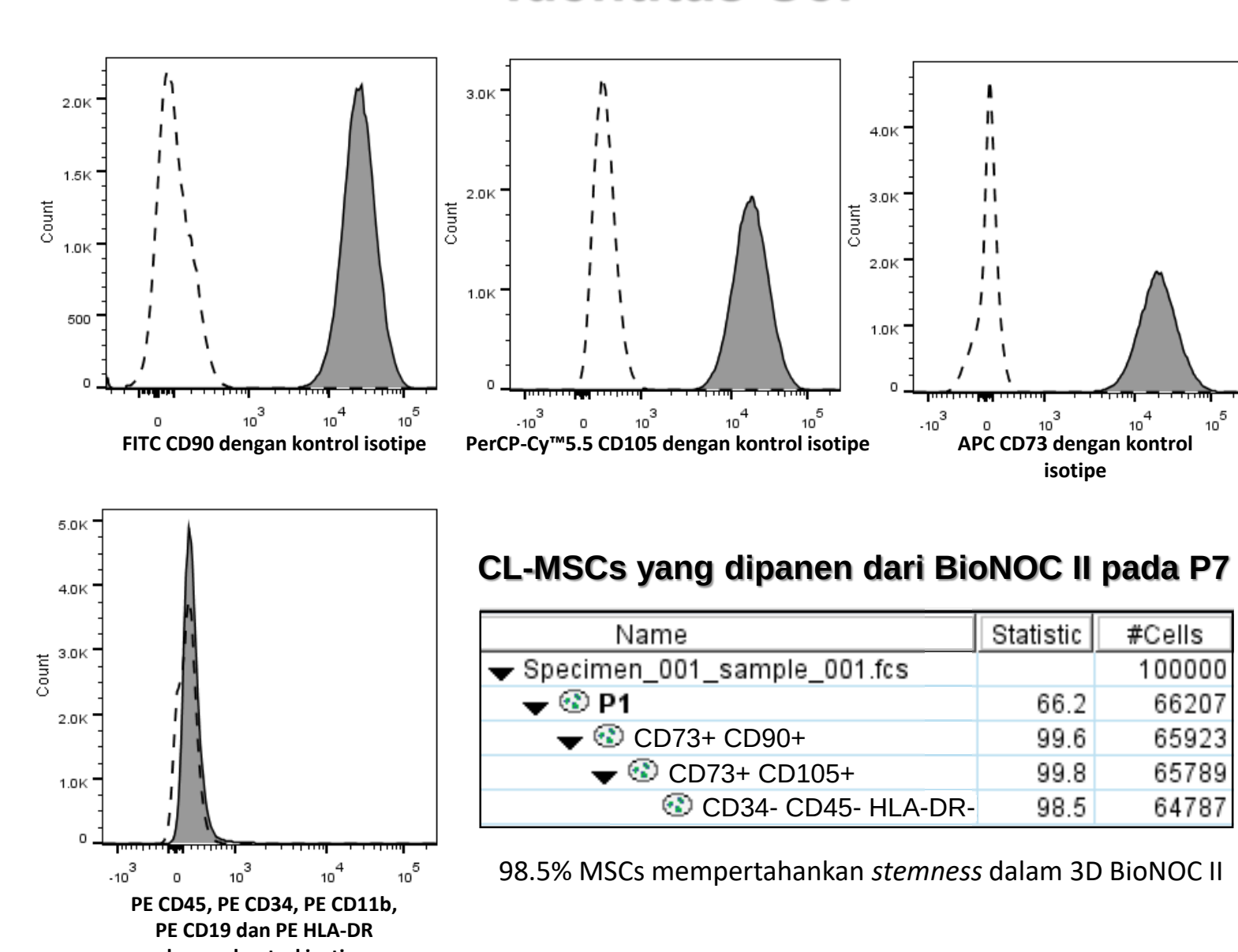
Enzim	Accumax™	Kolagenase	TrypLE™ Express	Trypsin	Enzim Mix Esco Aster
Panen (%)	87	68.3	78.3	56.3	91.8
Viabilitas (%)	95.6	73.2	95.8	88.9	93.5



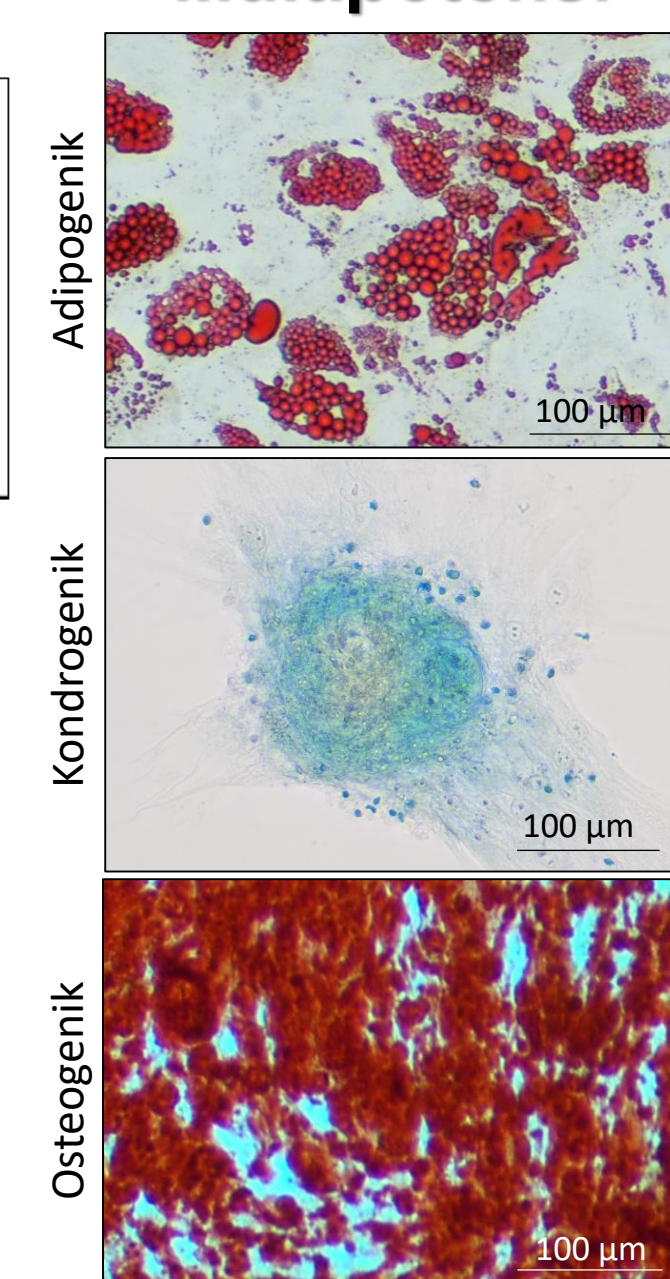
*Efisiensi pemanenan bervariasi untuk tipe sel punca yang berbeda dan enzim yang digunakan

PENGENDALIAN MUTU & KRITERIA RILIS

Identitas Sel



Multipotensi



KESIMPULAN

- Bioreaktor *fixed-bed* sekali pakai, dengan kemudahan peningkatan skala *bench* ke skala industrial
- Proses *seed train* yang disederhanakan
- Ekspansi MCSs dengan proses yang memenuhi *Current Good Manufacturing Practices* (cGMP)

Faktor/Atribut	Performa MSCs
Pelekatan Sel	Efisiensi <i>seeding</i> yang tinggi >90%. Pelapisan fibronektin media bebas serum (sesuai untuk produksi dengan cGMP).
Pertumbuhan dan Pemantauan Sel	Kemudahan visualisasi sel pada matriks dengan pewarnaan. Konfluensi dicapai pada hari ke 5-8. Pengendalian dan pemantauan parameter proses.
Pemanenan Sel	>90% sel dipanen dengan enzim yang dipatenkan Esco Aster.
Sekresi ECM	Fibronektin dan kolagen teramati. Lebih relevan dengan kondisi <i>in vivo</i> dengan pertumbuhan 3D.
Kualitas Sel	<i>Stemness</i> dan diferensiasi <i>trilineage</i> MSCs dipertahankan. Viabilitas dari hasil panen >90%, dengan sel yang sehat setelah dipanen.

Perbandingan kultur 2D vs 3D untuk CL-MSCs @ P6

	Flask Kultur 2D	BioNOC™ II 3D
Morfologi sel	Polihedral	Bentuk <i>spindle</i> , seperti fibroblastik
Kepadatan sel	2.5 juta / flask T75	2e8 sel / CelCradle™
Penggunaan media	15 ml	500 ml
Jumlah sel: penggunaan media	166,000 sel : 1 ml	400,000 sel : 1ml
Untuk mendapatkan 2e8 sel	80 flask T75 dengan media 1200 ml	1 CelCradle™ dengan media 500 ml
% sel yang tetap <i>stemness</i>	79%	98%

MSCs dapat mencapai ekspansi ~10 kali lipat dengan CelCradle™

Saat ini *seeding* antara 2-3e7 sel per CelCradle™ untuk mendapatkan 2e8 sel. Diproyeksikan untuk mendapat 4e9 sel dengan 2L TideCell® dan 9e11 sel dengan 300L TideCell®

*Kepadatan sel di akhir akan bervariasi berdasarkan umur, sumber sel punca dan jenis media yang digunakan