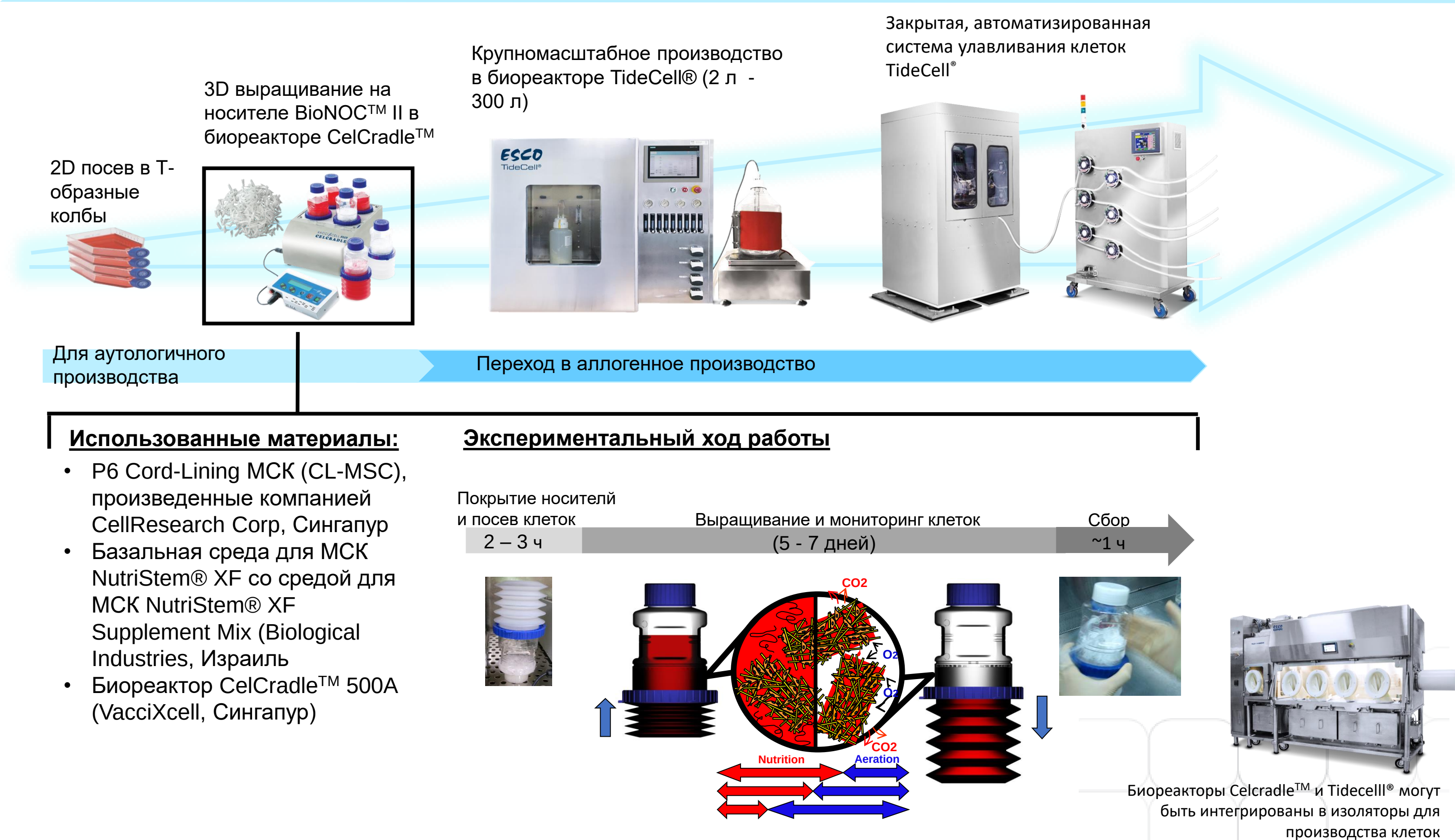


ВВЕДЕНИЕ

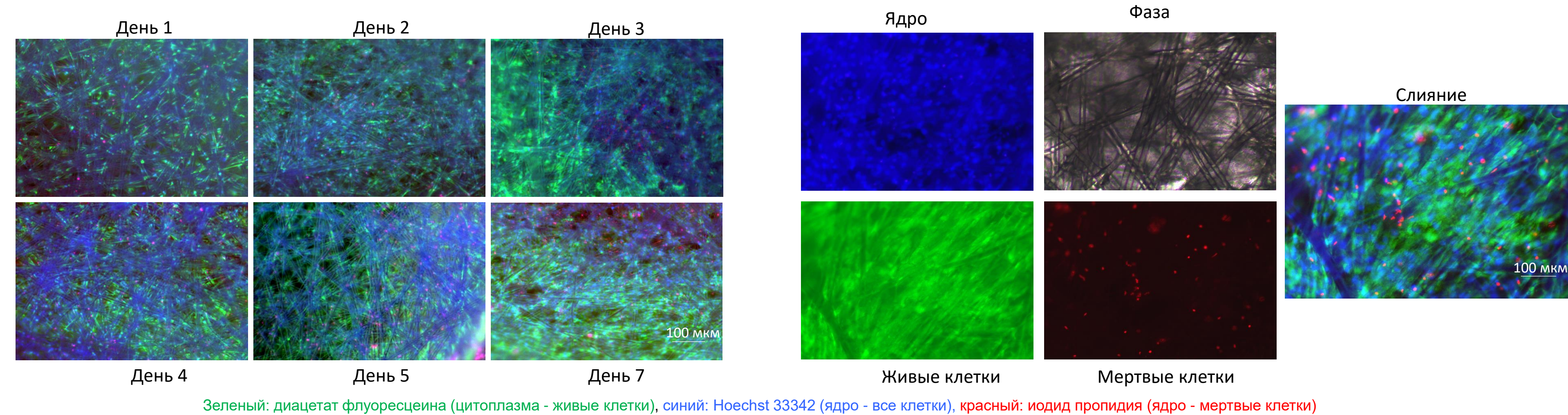
Мезенхимальные стволовые клетки человека (МСК) получили большой медицинский интерес в качестве нового варианта лечения и стимулировали развитие новой эпохи в регенеративной медицине. Однако обычное культивирование на пластиковых чашках и суспензиях затруднительно при увеличении производства МСК для клинических применений. Чтобы решить эти проблемы, Esco Aster использовала биореакторы приливного типа Tide Motion для разработки масштабируемой операции биопроцесса для производства МСК в соответствии с надлежащей производственной практикой (GMP). Человеческие МСК, полученные от здоровых доноров, были выращены в обычных 2D-адгезивных культурах в несколько проходов перед посевом в макроносители (BioNOC™ II) в бутылке CelCradle™. Клетки выращивали в определенных химических средах и достигали эффективности извлечения более 90%, при этом клеточная активность превышала 85% через 5-7 дней в культуре. В соответствии с требованиями Международного общества клеточной терапии (ISCT) критерии контроля качества и высвобождения МСК, характеризующиеся их поверхностными маркерами и мультипотентностью (адипогенная, остеогенная и хондрогенная дифференциация), обеспечили более 95% МСК в культуре. Важно отметить, что МСК, культивируемые на BioNOC™ II, демонстрируют сходные характеристики in vivo с секретами белков внеклеточных матриц (ВКМ) и фибробластических морфологических изменений. Наш текущий процесс является надежным, т.к. опирается на стандартные инструменты для биобработки на большинстве производственных мощностей по контрактам. Благодаря мониторингу и оптимизации ключевых параметров процесса, таких как уровень pH, уровень потребления глюкозы, мы можем легко перевести производство с лабораторного уровня до академических / промышленных исследований и разработок в масштаб пилотного производства, клинических испытаний и коммерческого производства.

РАЗРАБОТКА ПРОЦЕССА



РЕЗУЛЬТАТЫ

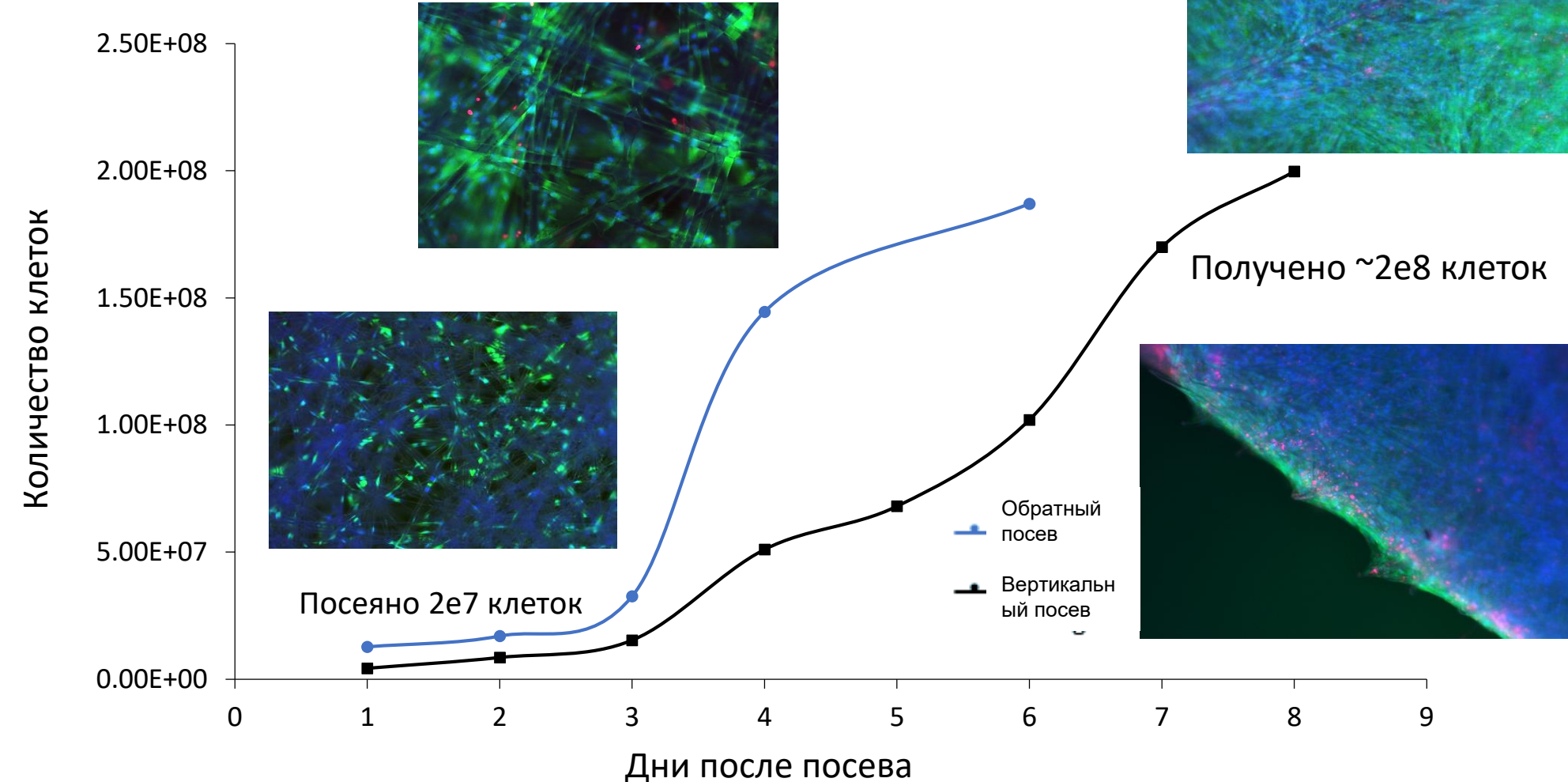
КОНТРОЛЬ ВЫРАЩИВАНИЯ МСК В CELCRADLE™



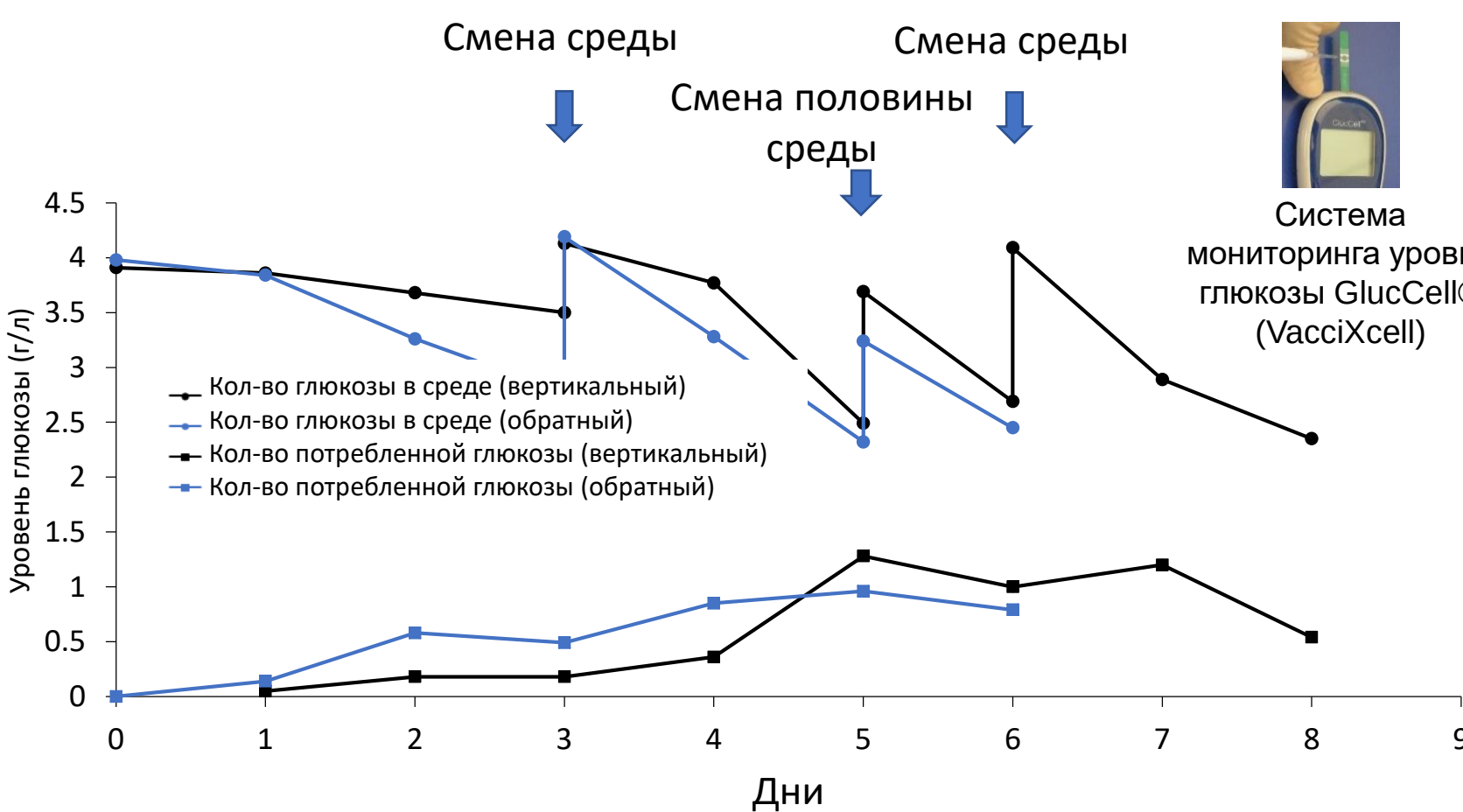
Высокий уровень слияния МСК в BioNOC™ II



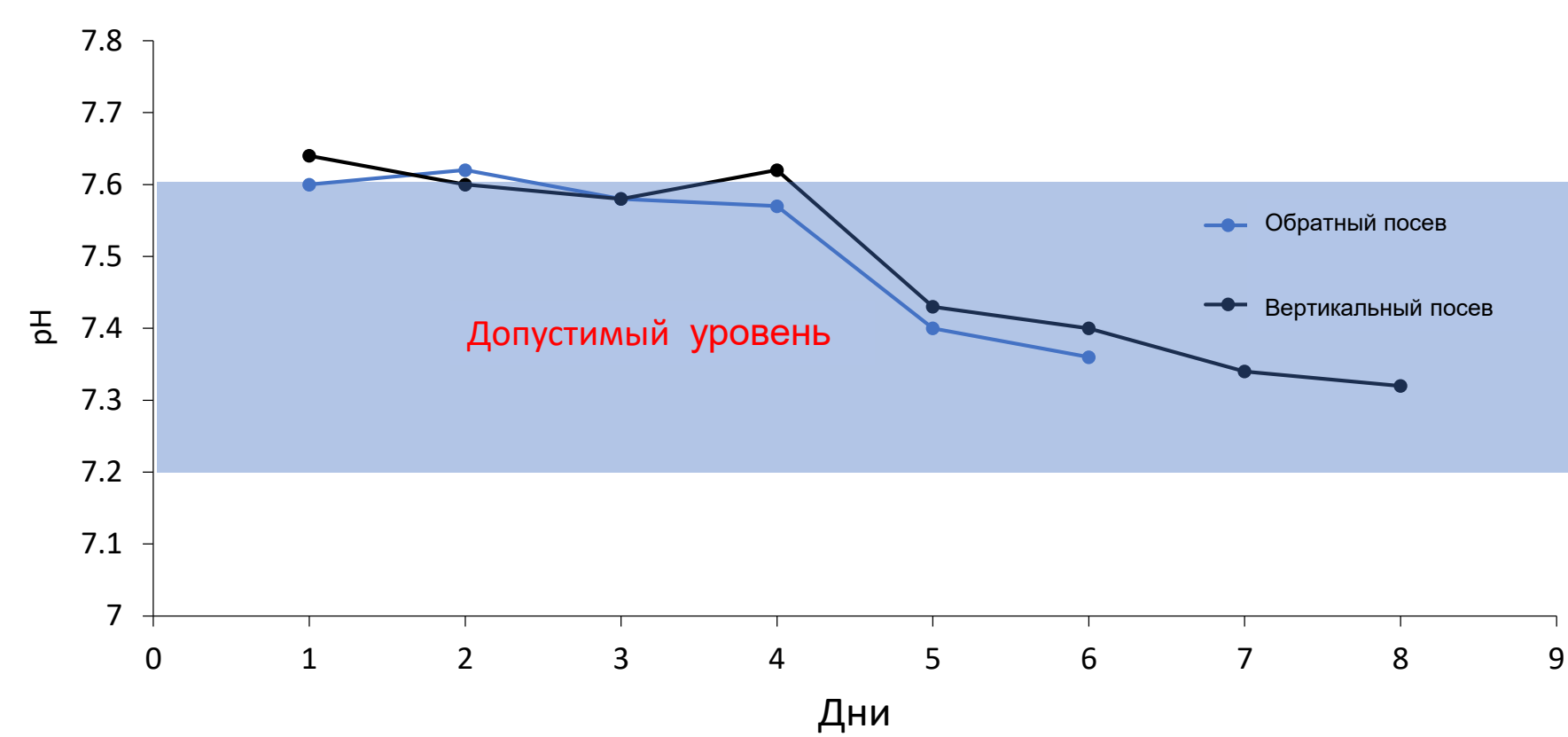
Рост клеток в CelCradle™



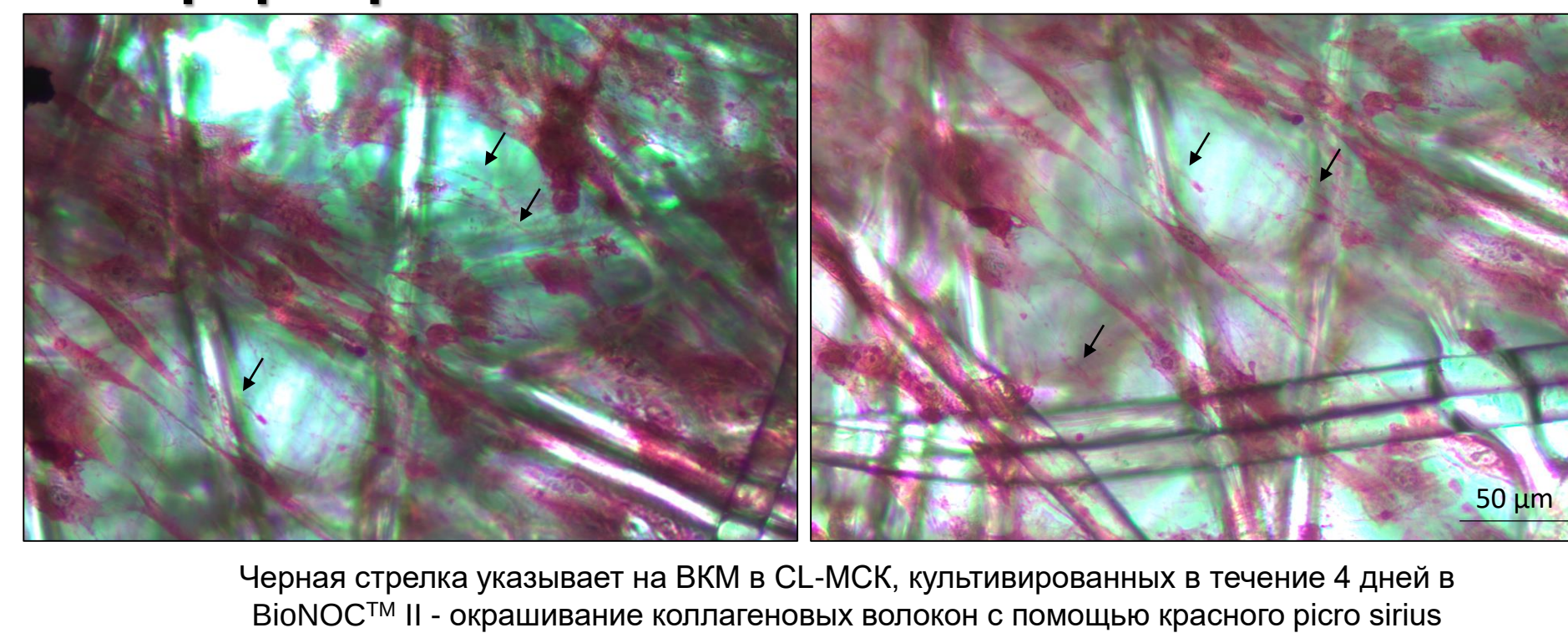
Потребление глюкозы



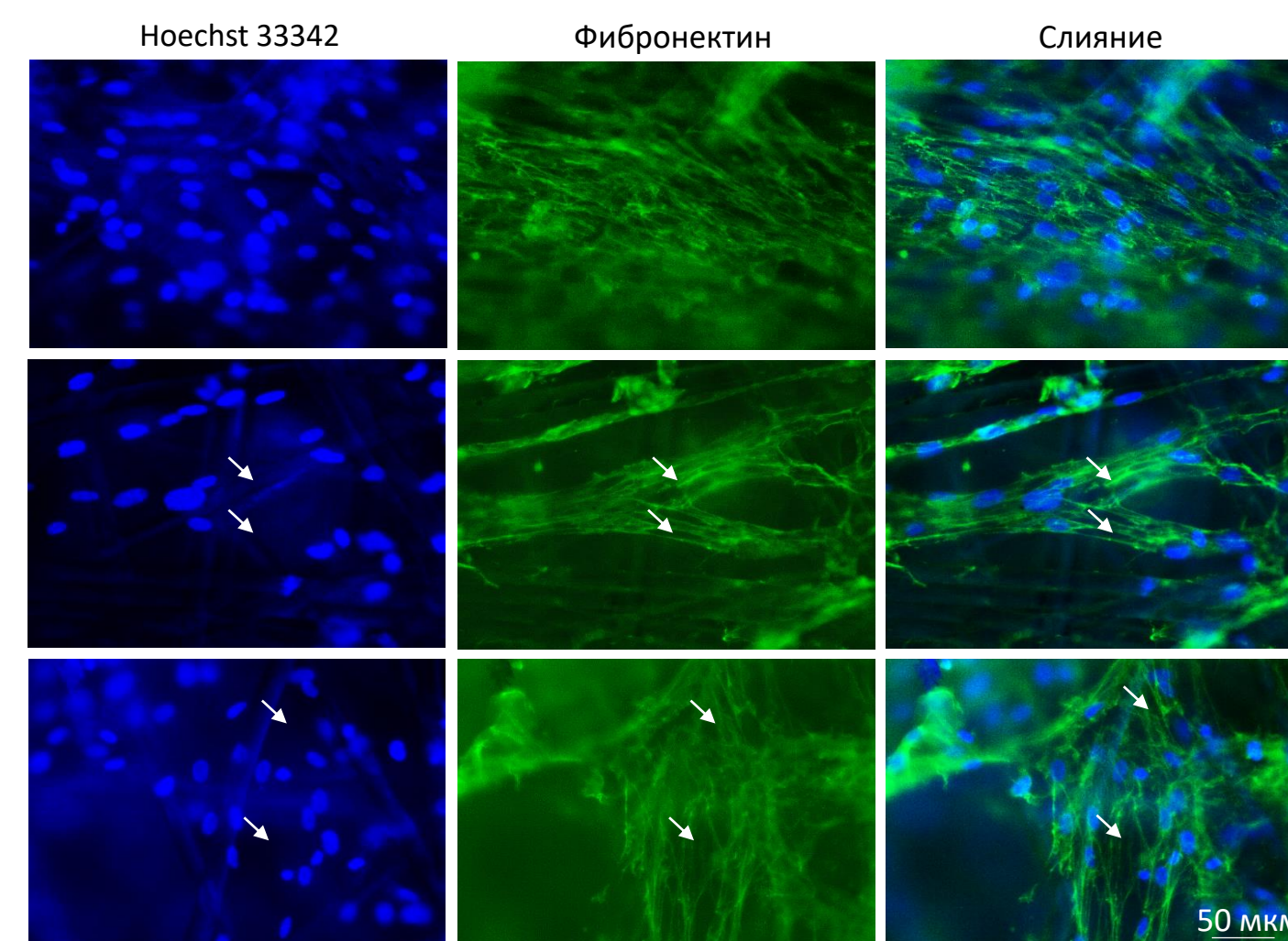
Мониторинг pH



Сбор фибрильных сетей ВКМ на 3D BioNOC™ II

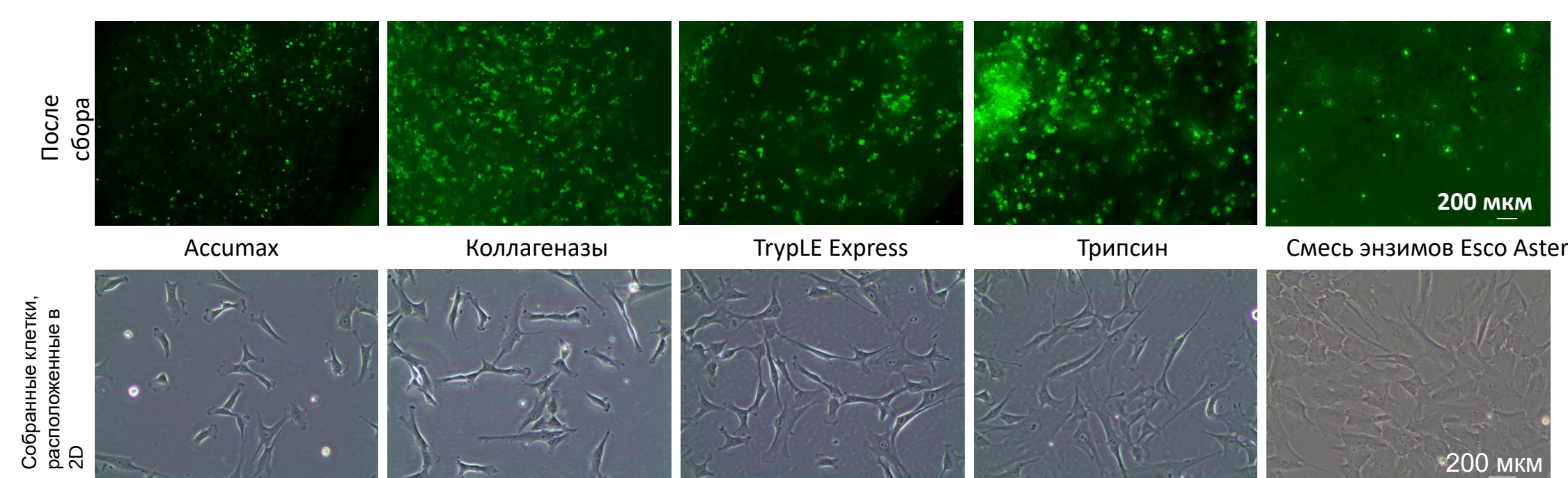


Образование ВКМ



Сбор клеток

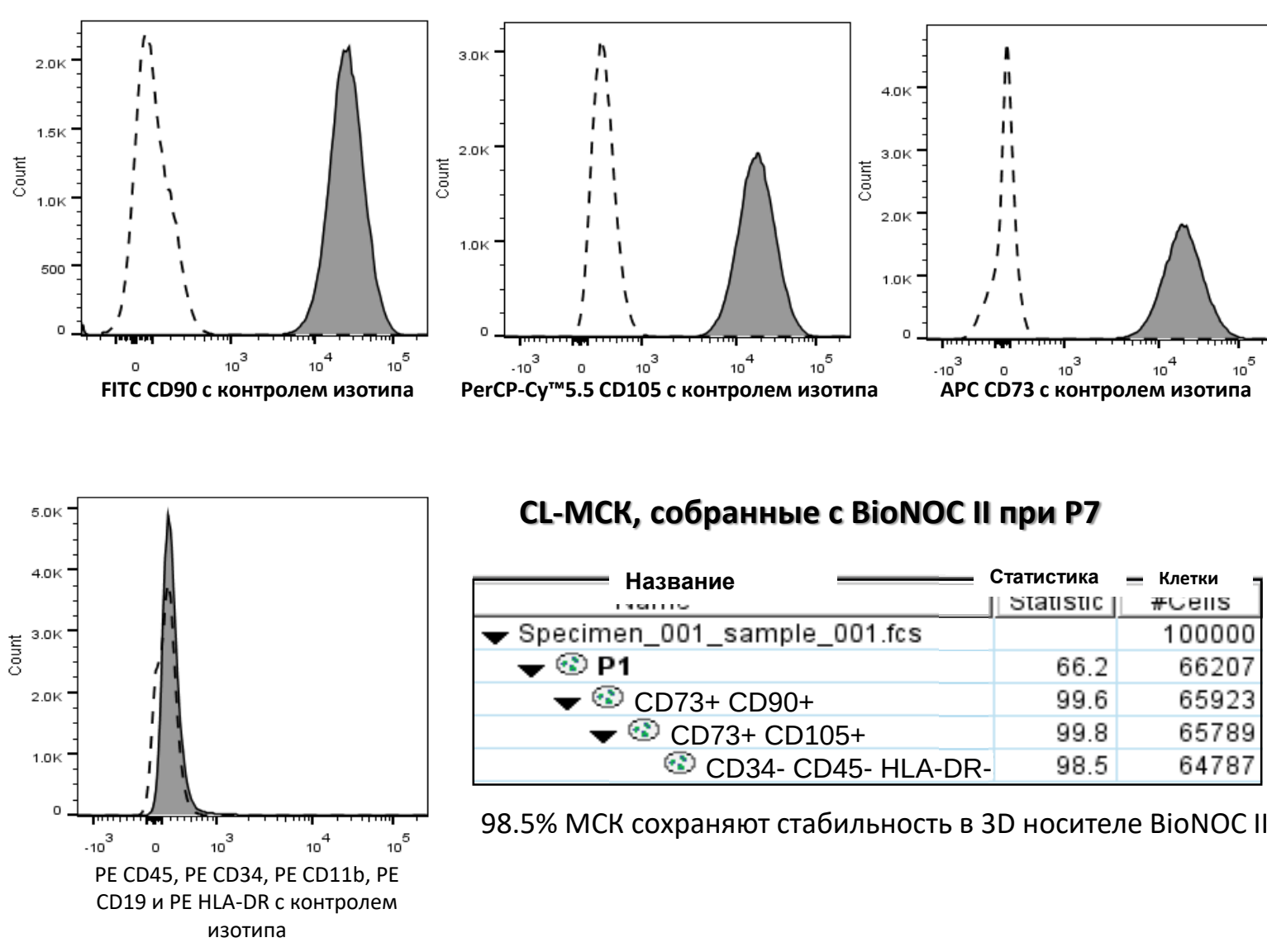
Энзимы	Accutax™	Коллагеназы	TrypLE™ Express	Трипсин	Смесь энзимов Esco Aster
Сбор (%)	87	68.3	78.3	56.3	91.8
Жизнеспособность (%)	95.6	73.2	95.8	88.9	93.5



* Эффективность сбора зависит от различных типов стволовых клеток и используемой смеси энзимов

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА И КРИТЕРИИ РЕЛИЗА

Идентичность клеток



Multipotency

- Одноразовый биореактор с неподвижным слоем и легкой масштабируемостью от настольного до промышленного производства
- Упрощенная работа с клетками
- Выращивание МСК в соответствии с требованиями GMP

Фактор / атрибут	Производительность МСК
Прикрепление клеток	Высокая эффективность посева >90% Покрывание фибронектином свободной от сыворотки среды (подходит для производства по GMP)
Рост и контроль клеток	Простота визуализации клеток на матрице через краситель Слияние достигается на 5-8 день Контроль и мониторинг параметров процесса
Сбор клеток	>90% клеток собирается с помощью подходящих ферментов Esco Aster
Выделение ВКМ	Наблюдаются фибронектин и коллаген Более уместна для условий in vivo с 3D-ростом
Качество клеток	Стволовые и дифференциация трилинии МСК сохранены Жизнеспособность собранных клеток > 90%, со здоровыми клетками, полученными в результате

Выводы

Сравнение 2D и 3D культивирования CL-MSC @ P6

	2D колба	3D BioNOC™ II
Морфология клеток	Многогранные	Веретенообразные, похоже на фибропласт
Плотность клеток	2,5 миллиона / колба T75	2e8 клеток / CelCradle™
Используемая среда	15 мл	500 мл
Кол-во клеток : используемой среды	166000 клеток : 1 мл	400000 клеток : 1 мл
Чтобы получить 2e8 клеток	80 колб T75 с 1200 мл среды	1 CelCradle™ с 500 мл среды
% клеток, сохраняющих стволовость	79%	98%

С помощью CelCradle™ возможно получить ~ 10 раз больше МСК

В настоящее время посев 2-3e7 клеток на CelCradle™ можно получить 2e8 клеток (для получения справок свяжитесь с Esco VacciXcell (Оборудование для биопроцессов): mail@vaccixcell.com или Esco Aster (GMP CDMO): mail@escoaster.com)

* Конечная плотность сильно зависит от возраста и источника стволовых клеток, а также типа используемой среды

Услуги по организации производств Esco Aster и биореакторы приливного типа