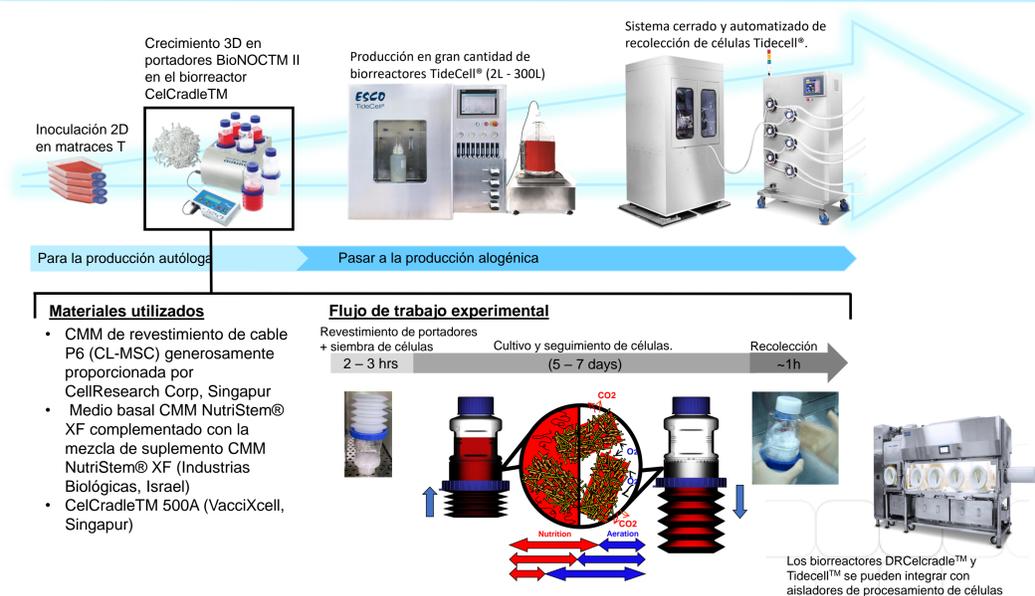


## INTRODUCCIÓN

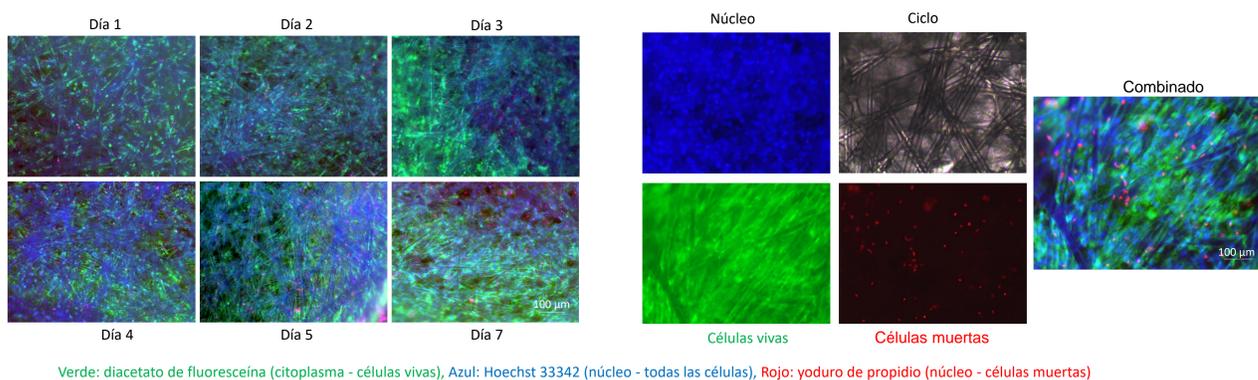
Las células madre mesenquimales humanas (CMM) han recibido un gran interés médico como una nueva opción de tratamiento y han estimulado una nueva era en la medicina regenerativa. Sin embargo, el cultivo tradicional en artículos de plástico y en suspensiones es difícil de aumentar la producción de CMM para aplicaciones clínicas. Para superar estos desafíos, ESCO ASTER ha aprovechado los biorreactores Tide Motion para desarrollar una operación de bioprocesos escalable para la producción de CMM en un proceso compatible con Buenas prácticas de fabricación (GMP). Las CMM humanas aisladas de donantes sanos se expandieron en cultivos adherentes 2D convencionales en algunos pasajes antes de sembrar en macro transportador (BioNOC™ II) en una botella de CelCradle™. Las células se cultivaron en medios químicamente definidos y se lograron eficiencias de recolección de más del 90%, con viabilidades celulares superiores al 85% después de 5-7 días en cultivo. De acuerdo con la Sociedad Internacional de Terapia Celular (SITC), el control de calidad y los criterios de liberación para las CMM caracterizadas por sus marcadores de superficie y multipotencia (diferenciaciones adipogénicas, osteogénicas y condrogénicas) aseguraron más del 95% de las CMM en cultivo. Es importante destacar que las CMM cultivadas en BioNOC™ II mostraron características in vivo similares, con secreciones de proteínas de matriz extracelular (MEC) y cambios morfológicos fibroblásticos. Nuestro proceso actual es sólido y se basa en herramientas estándar de bioprosesamiento en la mayoría de las instalaciones de fabricación por contrato (CMO). A través del monitoreo y la optimización de los parámetros clave del proceso, como el pH, las tasas de consumo de glucosa, nuestro objetivo es traducir con facilidad la producción a escala de laboratorio de I & D académico / industrial a escala piloto / piloto de ensayos clínicos y producción comercial.

## PROCESO DE DESARROLLO

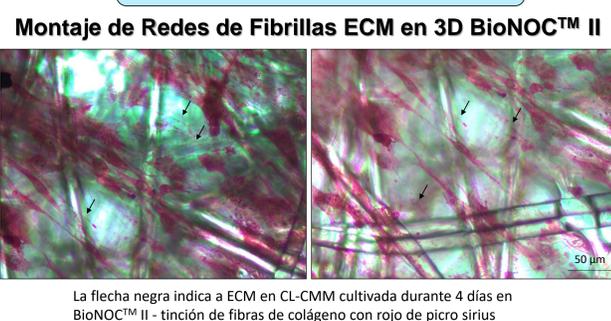


## RESULTADOS

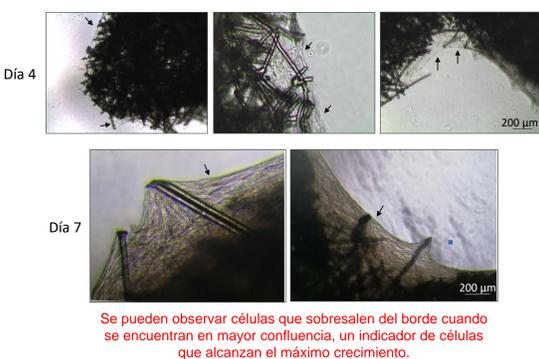
### SEGUIMIENTO DE LA EXPANSIÓN DE MSC EN CELCRADLETM



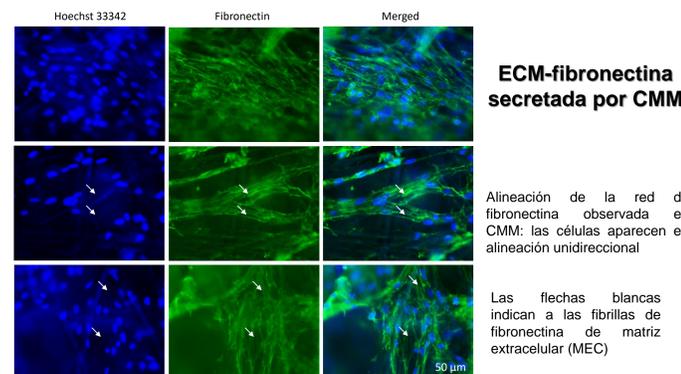
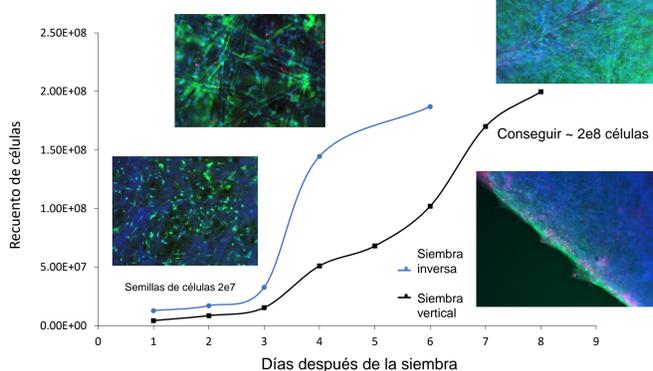
### FORMACIÓN DE ECM



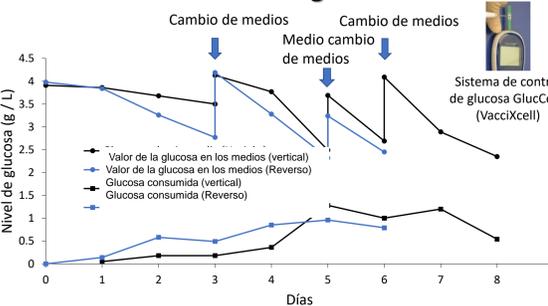
### Mayor confluencia de CMM en BioNOC™ II



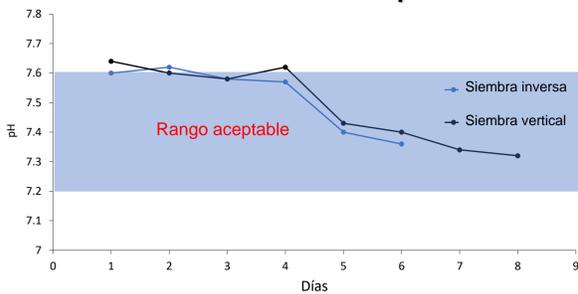
### Crecimiento celular en CelCradle



### Consumo de glucosa



### Monitoreo de pH



### RECOLECCIÓN DE CELULAS

Enzimas	Accumax™	Colagenasa	TrypLE™ Express	Tripsina	Esco Aster Mezcla de enzimas
Recolección (%)	87	68.3	78.3	56.3	91.8
Viabilidad (%)	95.6	73.2	95.8	88.9	93.5

Después de la recolección

Accumax, Colagenasa, TrypLE Express, Tripsina, Mezcla de enzimas Aster de Esco

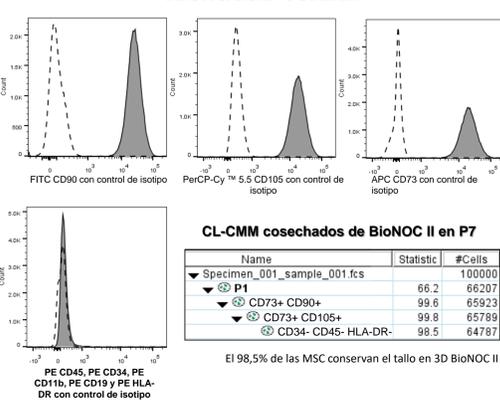
Células recuperadas en 2D

Accumax, Colagenasa, TrypLE Express, Tripsina, 2D culture

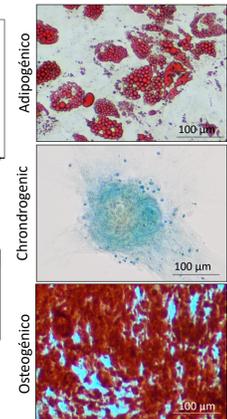
\*La eficiencia de la recolección varía según el tipo de células madre y la combinación de enzimas utilizadas

## CONTROL DE CALIDAD Y CRITERIOS DE PUBLICACIÓN

### Identidad celular



### Multipotencia



## CONCLUSIONES

- Biorreactor de lecho fijo de un solo uso, con una fácil traducción del banco a la escala industrial.
- Funcionamientos simplificados de trenes de semillas.
- Expansión de CMM en un proceso compatible con las Buenas Prácticas de Manufactura (cGMP) actuales

Factor / Características	Rendimiento de los MSC
<b>Adhesión Celular</b>	Mayor eficiencia de siembra > 90% Recubrimiento de fibronectina para medios sin suero (adecuado para la producción de cGMP)
<b>Crecimiento y monitoreo de células</b>	Facilidad de visualización de las células en la matriz mediante coloración de tinte. Convergencia lograda en el día 5-8 Control y seguimiento de parámetros de proceso.
<b>Recolección de células</b>	> 90% de células recolectadas con enzimas apropiadas de Esco Aster
<b>Secreción de ECM</b>	Fibronectina y colágeno observados. Más relevante para condiciones in vivo con crecimiento 3D
<b>Calidad de las células</b>	Conservación de la diferenciación de tallos y trineo de MSC. Viabilidad de la cosecha > 90%, con células sanas obtenidas después de la cosecha.

### Comparación de Cultivos 2D vs 3D para CL-CMM @ P6

	Matraz de Cultivo 2D	3D BioNOC™ II
Morfología de la célula	Poliédrico	Husillo de forma fibroblástica como
Densidad de la célula	Frasco de 2,5 millones / T75	2e8 células / CelCradle™
Uso de medios	15 ml	500 ml
Número de células: uso de medios	166,000 células: 1 ml	400,000 células: 1ml
Para obtener 2e8 células.	80 matraces T75 con 1200 ml de medios.	1 CelCradle™ con 500 ml de medios
% de células que retienen tallo	79%	98%

**Las CMM pueden lograr una expansión de aproximadamente 10 veces en CelCradle™**

Actualmente se siembra entre 2-3e7 células por CelCradle™ para obtener 2e8 células  
Se proyecta obtener 4e9 células en 2L TideCell® y 9e12 células en 300L TideCell®  
La densidad final variará según la edad, la fuente de las células madre y el tipo de medio utilizado