

概述

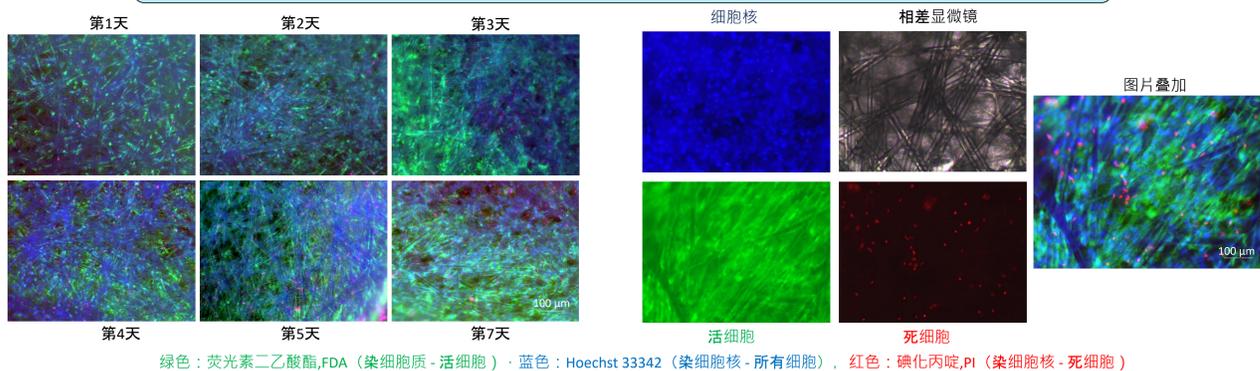
干细胞治疗为核心的再生医学，干细胞技术及开发近年来一直受到国际资本市场的追捧。间充质干细胞（MSCs）扩增是生产细胞治疗产品的核心步骤之一，然而，常规的细胞培养方式很难实现临床所需的细胞量。面对挑战，Esco 团队潜心数年，研发并完成了完整的一套符合当前良好生产规范（cGMP）的干细胞大量体外培养方案。其中包括3D片状载体（BioNOC™ II），专利保护的潮汐式高密度细胞扩增反应器（CelCradle™, TideCell®），以及一系列针对不同干细胞的扩增方案。首先，健康供体分离的间充质干细胞经常规培养瓶扩增几代后，接种到片状载体（BioNOC™ II），并同时转入潮汐式细胞培养反应器中培养（CelCradle™）。经GMP合规培养基培养5-7天后，间充质干细胞总数能扩充~10倍，能达到超过90%的细胞收获率，并取得细胞活力大于85%。我们采用了国际细胞疗法协会（ISCT）的标准，对间充质干细胞的质量控制和释放标准进行检测：即细胞表面特异性抗原和具有三系诱导分化检测（向脂肪细胞、成骨细胞、软骨细胞分化的能力）。同时，研究人员发现间充质干细胞在载体BioNOC™ II上培养时显示出类似体内生长的特征，细胞呈现出细胞外基质（ECM）蛋白的分泌和细胞成纤维形态。综合上述，概括了Esco潮汐式反应器轻松将实验室规模的生产从学术或工业研发，转化为临床试验，以及商业生产规模。Esco利用其转悠的潮汐式技术（Tide Motion®），可支持一次性生物生产工艺，在GMP（生产质量管理规范）条件下，大规模自动化生产，并具有多层系动画系统。其中包括温度，二氧化碳，酸碱控制等，泵送系统，机械运动，传感器和检测等，实现生物生产，加快提升产能。

工艺流程

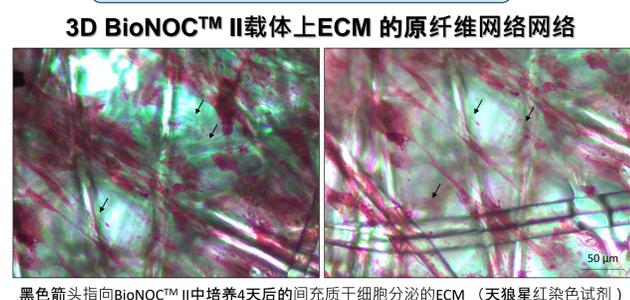


培养数据

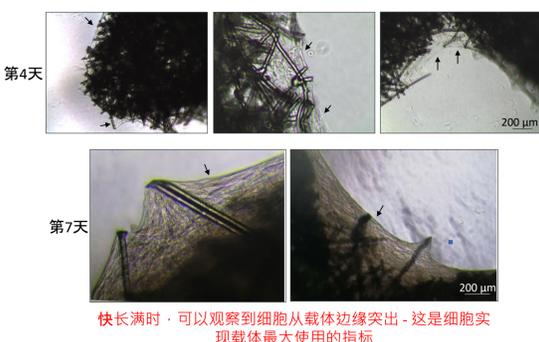
监测CELCRADLE™中间充质干细胞的培养



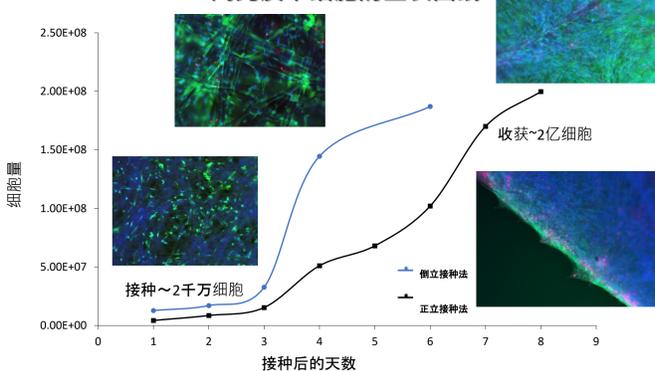
细胞外基质ECM的分泌



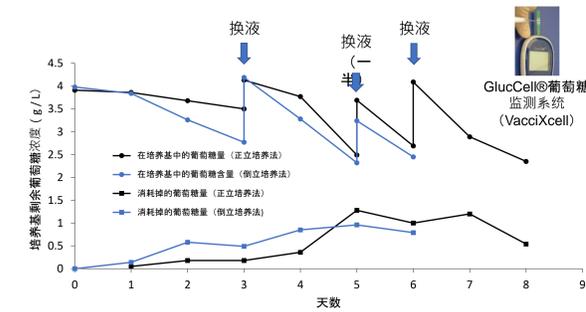
高密度间充质干细胞在BioNOC™ II载体上



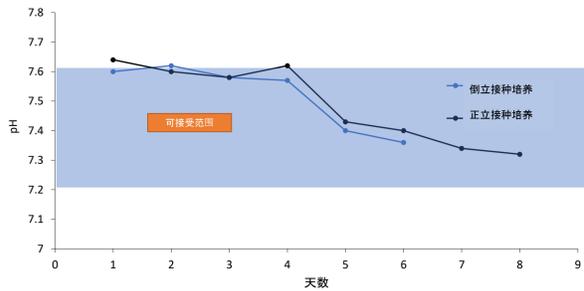
CelCradle™反应器中间充质干细胞的生长曲线



葡萄糖消耗量

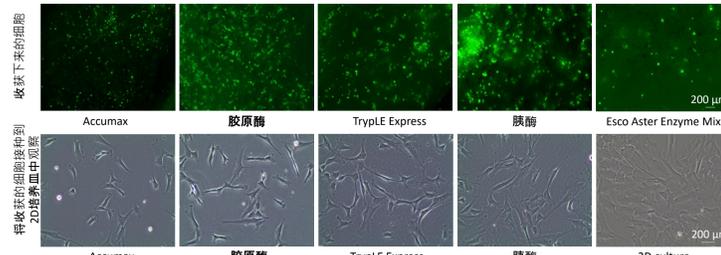


pH监测



收获间充质干细胞

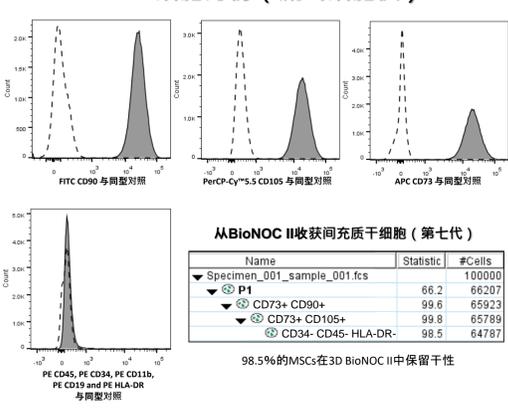
消化酶	Accumax™	胶原酶	TrypLE™ Express	胰酶	Esco 秘方消化酶
细胞收获率 (%)	87	68.3	78.3	56.3	91.8
细胞活性 (%)	95.6	73.2	95.8	88.9	93.5



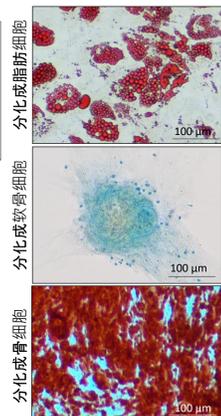
*不同间充质干细胞类型和所用消化酶混合物的收获效率各不相同

质量控制和释放标准

细胞身份 (流式细胞仪)



分化能力



结论

- 一次性固定床生物反应器，易于从实验到工业规模的迅速放大
- 简化接种操作
- 实现间充质干细胞大量体外培养并符合当前良好生产规范 (cGMP)

要素/属性	间充质干细胞表现
细胞附着	细胞附着效率高达> 90% 适用于无血清培养基，需fibronectin coating (适用于cGMP生产)
细胞生长和监测	可染色以直接观察载体上的细胞 5-8天达到细胞饱和和密度 可控制和监控过程参数 (pH, 葡萄糖等)
细胞收获	Esco 秘方消化酶可收获> 90%的细胞
ECM分泌	纤连蛋白和胶原蛋白的分泌 载体与体内培养环境相似
细胞质量	保留了间充质干细胞的干性 (Stemness)和三系诱导分化检测 (Trilineage Differentiation) 收获率与细胞活力高 (>90%)

间充质干细胞在传统2D方瓶与3D载体BioNOC™ II 培养的比较

	2D Culture Flask	3D BioNOC™ II
细胞形态	多面体	纺锤形·成纤维状
细胞密度	250万细胞 / T75 方瓶	2亿细胞 / CelCradle™
培养基用量	15 ml	500 ml
每1ml培养基所产细胞量	166,000 细胞	400,000 细胞
如何获得2亿个细胞	80 个 T75 方瓶加 1200 ml培养基	1 个 CelCradle™ 反应器加 500 ml 培养基
细胞保留干性率 (%)	79%	98%

间充质干细胞在CelCradle™小型潮汐式反应器中平均实现~10倍的扩增
目前在CelCradle™ (100ml) 反应器接种2-3千万个间充质干细胞，5-8天内可实现扩增至2亿个间充质干细胞。
以此类推，使用2L中型TideCell®反应器可获得40亿间充质干细胞，300L大型TideCell®反应器可获得9000亿间充质干细胞。