

THINK FORWARD TO HSPCs IN THE CLINIC

cGMP-Manufactured StemSpan™-AOF の
ご紹介

造血幹・前駆細胞 (hematopoietic stem and progenitor cells: HSPCs) は、細胞・遺伝子治療アプリケーションにおいて幅広く使用されています。細胞治療研究のための HSPC 培養では、細胞培養でのリスクとばらつきを最小限に抑え、再現性のある安定した性能と安全性を確保することが重要となっています。細胞治療研究が基礎研究であれ、臨床研究であれ、StemSpan™-AOF 培地を使用することで、ウイルスコンタミネーションのリスクを最小限に抑えることが可能です。また、StemSpan™-AOF 培地は動物由来成分フリー (animal origin-free: AOF) であるため、規制上の課題を回避することができ、臨床応用へのスムーズな道りを支援することが可能です。さらに、StemSpan™-AOF は cGMP に準拠して製造したものであるため、再現性のある結果を得るために最高レベルの品質と一貫性を約束します。

遺伝子編集アプリケーション向け StemSpan™-AOF

HSPC の遺伝子操作が可能になったことで、造血を制御するメカニズムへの理解がさらに深まり、新たな細胞治療の開発にも寄与しています。造血細胞のゲノム編集が可能な培地を使用することで、細胞治療研究を次のレベルに引き上げることが可能です。CRISPR-Cas9 遺伝子編集アプリケーションにおける HSPC の維持管理および拡大培養に最適な培養条件を、StemSpan™-AOF がどのようにサポートしているかをご覧ください。

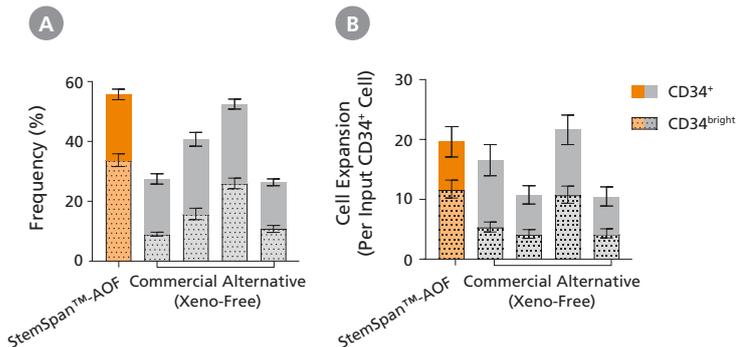


図 1. StemSpan™-AOF は、他の市販培地と比較して同等以上のヒト CD34⁺ および CD34^{bright} 細胞の増殖が可能

純化した臍帯血由来 CD34⁺ 細胞を、StemSpan™-AOF (オレンジ色のバー) および 4 種類の市販の他社の培地 (灰色のバー) で 7 日間培養しました。いずれの培地にも、StemSpan™ CD34⁺ Expansion Supplement および 175 nM の UM171* を添加しました。培養細胞中の CD34⁺ および CD34^{bright} 生細胞の (A) 頻度および (B) 細胞増殖量は、生細胞数およびフローサイトメトリーの測定値に基づき算出しました。動物由来成分フリー組成である StemSpan™-AOF は、比較対象としたすべてのゼノフリー競合培地と同等以上の性能を示しました。

細胞治療研究に StemSpan™-AOF を 選定する理由

SAFE.

動物由来の一次または二次原料を含まない培地を使用することにより、ウイルスコンタミネーションのリスクを最小限に抑えられます。

ROBUST.

無血清・動物由来成分フリーの培養条件を使用することにより、実験の一貫性を保ちます。

FLEXIBLE.

お客様の細胞治療研究のニーズに合わせて StemSpan™ Expansion Supplements、各種サイトカイン、または添加剤を加えることにより、細胞培養条件をカスタマイズできます。

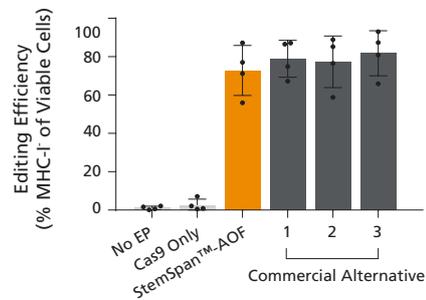


図 2. StemSpan™-AOF で培養したヒト CD34⁺ 細胞の遺伝子編集効率は他社の培地と同等

StemSpan™-AOF (オレンジ色のバー) またはゼノフリーの市販の他社の培地 (灰色のバー) に、StemSpan™ CD34⁺ Expansion Supplement および 175 nM の UM171* を添加して 2 日間培養した細胞に、 β 2 ミクログロブリン (B2M) を標的とする crRNA:tracrRNA を含む CRISPR-Cas9 RNP 複合体を、エレクトロポレーション法で導入しました。エレクトロポレーション非実施の細胞 (No EP) および gRNA を含まない Cas9 をエレクトロポレーション法で導入した細胞 (Cas9 Only) は、StemSpan™ CD34⁺ Expansion Supplement および 175 nM の UM171* を添加した StemSpan™ SFEM II で培養しました。B2M ノックアウト効率 (% MHC-I viable cells) は、蛍光色素結合抗 MHC-I 抗体を使用したフローサイトメトリーで測定しました。

*最終濃度 1 μ M に調製した UM729 (カタログ番号 72332) を使用した場合も、同様の結果が得られると考えられます。UM171 と UM729 の比較データを含む詳細情報については、Fares et al. Science 345, 1509-1512, 2014 をご参照ください。

生体内における HSPC 生着

造血細胞治療用製剤の品質を判断する有益なアッセイの 1 つとして、免疫不全マウス (例: NOD scid gamma (NSG) マウス) に、静脈内注射後の生着と多系列分化能を評価する方法が挙げられます。HSPC の「幹細胞性」は細胞処理方法や拡大培養、遺伝子編集に使用される培養条件など、多くのパラメーターの影響を受ける可能性があり、またこれらは細胞の生着性にも影響を及ぼす場合があります。cGMP 準拠の動物由来成分フリー培地である StemSpan™-AOF は、無培養細胞と同等かそれ以上のレベルで、CD34⁺ 細胞の多系列生着を可能にしています。

NSG マウスレシピエントにおける臍帯血由来 CD34⁺ 細胞の生着および拡大培養を、StemSpan™-AOF がどのようにサポートしているかご覧ください。

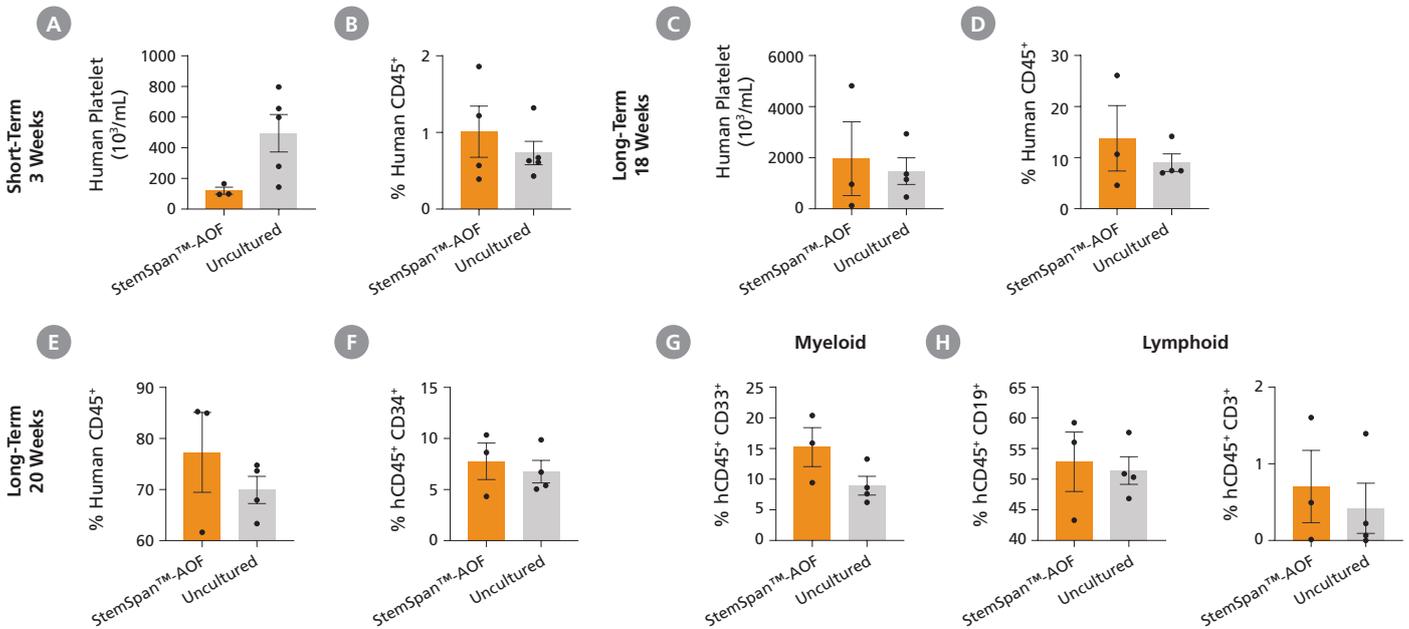


図 3. StemSpan™-AOF で拡大培養した臍帯血由来 CD34⁺ 細胞の NSG マウスレシピエントにおける生着

純化した臍帯血由来 CD34⁺ 細胞を、StemSpan™ CD34⁺ Expansion Supplement と UM729 (1 μM) を添加した StemSpan™-AOF で 7 日間培養しました。7 日間の拡大培養後に、10,000 個の新鮮または無培養 CD34⁺ 細胞を、皮下照射した NSG マウスに移植しました。(A-D) 移植後 3 週目と 18 週目の末梢血において、ヒト血小板数および汎白血球マーカー CD45 を発現しているヒト細胞の頻度を測定しました。データは平均値 ± SEM (n = マウス 3 ~ 5 匹) です。3 週目におけるヒト血小板の生着率は、無培養細胞のレシピエントよりも、StemSpan™-AOF 培養細胞のレシピエントのほうが低率でした。(C) 18 週目では、血小板の生着率に StemSpan™-AOF での拡大培養細胞と無培養細胞との間に有意差は認められませんでした。(B、D) StemSpan™-AOF で拡大培養された細胞のレシピエントにおけるヒト CD45⁺ 細胞の頻度は、無培養細胞のレシピエントにおける頻度と同等でした。(E ~ H) 20 週目に移植した NSG マウスの骨髄における長期的な多系列生着率を調べました。データは平均値 ± SEM (n = マウス 3 ~ 4 匹) です。(E、F) StemSpan™-AOF 拡大培養細胞のレシピエントであるマウスの骨髄中のヒト CD45⁺ および CD34⁺ 細胞の頻度は、無培養細胞のレシピエントでの頻度と同等でした。(G、H) StemSpan™-AOF で拡大培養した細胞の、骨髄系細胞 (CD45⁺CD33⁺) ならびにリンパ系細胞 (CD45⁺CD19⁺ B 細胞および CD45⁺CD3⁺ T 細胞) の生着率は、無培養細胞と同等でした。

Taking Your Research to the Clinic?

STEMCELL's Services for Cell Therapy program has a team of experts who can help support your regulatory filing by providing custom solutions such as quality documentation, additional product testing, and customized product manufacturing. To learn more about how we can support your preclinical and clinical research needs, visit us at www.stemcell.com/cell-therapy-services



CELL THERAPY LEARNING CENTER

Explore our scientific resources that can help you on your path to the clinic.

www.stemcell.com/hsc-learning