

Untersuchungen zur Expansion adulter mesenchymaler Stammzellen



B.Sc. Valentin Jossen,
Wiss. Assistent und Master-Student Life Sciences,
Vertiefung Pharmaceutical Biotechnology,
josseval@students.zhaw.ch

Adulte Stammzellen besitzen aufgrund ihrer Multipotenz ein grosses Potenzial für biopharmazeutische Applikationen (z.B. Krebstherapie, regenerative Medizin). Damit genügend hohe Zellausbeuten erreicht werden, ist ein *Scale-up* (Massstabsvergrößerung) der Kultivierungsprozesse von kleinvolumigen (mL-Systeme) auf grossvolumige (L-Systeme) Bioreaktorsysteme notwendig.

Für die Durchführung eines schnellen *Scale-up's* müssen deshalb vorgängig die verwendeten Reaktorsysteme bioverfahrenstechnisch charakterisiert und geeignete Übertragungskriterien definiert werden. Das Ziel der Bachelorarbeit war die bioverfahrenstechnische Charakterisierung einer 125 mL, gerührten Corning® Spinner-Flask. Darüber hinaus sollten geeignete *Scale-up*-Kriterien für die Prozessübertragung auf ein gerührtes *Benchtop*-Bioreaktorsystem ermittelt werden.

Festlegung der Übertragungskriterien (Suspendierkriterien)

Bei den mesenchymalen Stammzellen handelt es sich um adhärenz zu kultivierende Zellen, welche im Corning® Spinner auf kleinen Partikeln, sogenannten Microcarriern, wachsen. Da bei unzureichendem Suspendieren der Zell-Microcarrierkulturen Stofftransferlimitationen auftreten, ist ein vollständiges Suspendieren bei scherarmen Bedingungen zwingend erforderlich. Aus den realisierten Suspendierversuchen wurden das N_{s1} -Kriterium (Rührerdrehzahl, bei welcher ein Microcarrier nicht länger als 1 s an einer Stelle am Reaktorboden verharrt) und das N_{s1u} -Kriterium (Rührerdrehzahl, bei der die Microcarrier homogen verteilt sind) als Schlüsselkriterien für das Prozess-*Scale-up* bestimmt.¹

Theoretische, bioverfahrenstechnische Charakterisierung und Ermittlung der Modelldaten

Für die theoretische Charakterisierung des Kultivierungssystems wurde die numerische Fluidodynamik (engl. *Computational Fluid Dynamics, CFD*) eingesetzt. Mit dieser wurden die vorherrschenden Strömungsgeschwindigkeiten und Scherkräfte sowie das Suspendierverhalten der Microcarrier in der Corning® Spinner-Flask bei den ermittelten Suspendierzuständen simuliert und berechnet (Abb. 1). Dabei wurde im Laufe der Untersuchungen festgestellt, dass abhängig vom verwendeten Microcarrier mit bis zu 105 rpm sehr hohe Rührerdrehzahlen realisiert werden müssen, was zu hohen Scherbelastungen und dadurch zur Erniedrigung der Zellausbeuten durch Zellschädigung führt.

Validierung der Modelldaten

Die Validierung und Überprüfung der Modelldaten aus der numerischen Fluidodynamik wurde mittels der *particle image velocimetry (PIV)*, bei welcher die Geschwindigkeitsfelder berührungslos mit Hilfe eines Laserstrahles bestimmt werden, durchgeführt. Der Vergleich der Modelldaten (*CFD*) mit den experimentell ermittelten Daten (*PIV*) zeigte dabei eine gute Übereinstimmung, wodurch das theoretische Modell sowie die daraus erhaltenen Werte bestätigt werden konnten (Abb. 2). Die mittlere Abweichung zwischen den *CFD*- und *PIV*-Daten liegt dabei unter 7%.

Übertragung der Modelldaten auf das biologische System

Damit der Einfluss der Übertragungskriterien sowie der vorherrschenden verfahrenstechnischen Bedingungen auf die mesenchymalen Stammzellen untersucht werden konnte, wurden Spinner-Flask-Kultivierungen bei ausgewählten Rührerdrehzahlen durchgeführt. Bei

den Kultivierungen mit Fettstammzellen konnte gezeigt werden, dass die festgelegten Suspendierkriterien für ein *Scale-up* verwendet werden können. Es wurden maximale Expansionsfaktoren (*Fold change*) von bis zu 31.4 ± 3.6 erreicht, was zum gegenwärtigen Zeitpunkt zu den höchsten in einer Spinnerflask erzielten Werten unter serumreduzierten Bedingungen (< 5%) gehört.

¹ Kaiser et al., Chem,Eng,Technol. 2012, 85 (1-2), 95. DOI 10.1002/cite.20120018



Abb. 1: Vergleich der experimentellen (oben) und simulierten (unten) Microcarrierverteilung

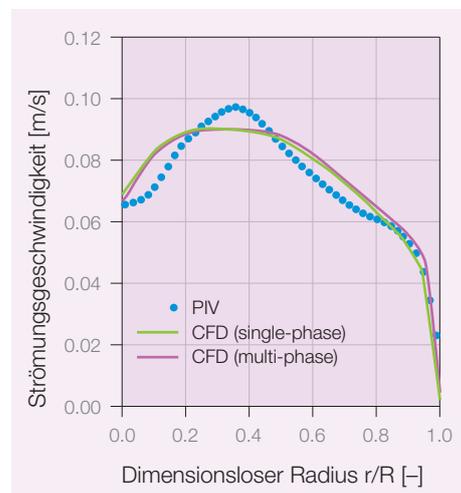


Abb. 2: Vergleich CFD (-) und PIV (.)

Forschungsprojekt

Entwicklung einer Technologieplattform für die skalierbare Produktion von therapeutisch relevanten Stammzellen

Leitung: Prof. Dr. Regine Eibl
Projektdauer: 2012–2014
Partner: Lonza Ltd.