



台灣創新材料股份有限公司

UniTantrix® 可溶解型微載體



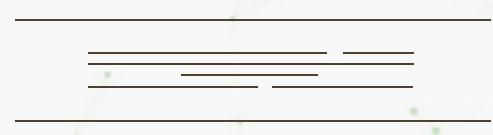
+886 3467 989



www.tantti.com



5F., No. 50, Minquan Rd.,
Luzhu Dist., Taoyuan City
33846, Taiwan



目錄

| | |
|------------------------------|---|
| 關於UniTantrix® 可溶解微載體..... | 2 |
| 產品應用案例..... | 3 |
| 產品清單..... | 5 |
| 操作說明..... | 6 |

產品訊息

體外哺乳類動物細胞培養於生物製藥業中扮演著相當重要的角色之一，這些領域包括疫苗（病毒）、酵素、生物激素、抗體及醫療用蛋白生產等，而於大規模生產製程人中微載體(microcarriers)即扮演著相當關鍵之基材，可大量降低成本，以實現更具經濟效應之大規模量產制程。微載體主要提供貼附型細胞(anchorage-dependent cells)一個較佳之貼附及生長環境，然而現階段主要遇到的問題為，細胞培養於微載體之上游製程時，細胞很難有效率的從微載體上分離下來，導致最終產物(病毒、抗體及細胞等)進入下游制程時需用過濾或離心方式才得以與微載體分離，但這些分離過程會使最終產物損失及增加下游制程的複雜性及成本。台創材所生產的UniTantrix® 為可溶解型微載體，可以解決上述所遇到的問題提供一個創新且理想之解決方案，UniTantrix® 微載體之可溶解的獨特性可完整的回收細胞，其有效率地將細胞與微載體分離，為生物製藥之上下游帶來更具簡單及經濟效應之大規模量產制程。

UniTantrix® 可溶解型微載體尺寸大小為 300~1000 μm，可有效之溶解與細胞分離及回收細胞外，內部之規格排列的微米多孔結構為細胞提供了有效生長表面積及微環境空間，也提供了更多之內部生長空間以保護細胞承受較小之剪切力傷害。此外，膠原蛋白(denatured collagen)之原料促進了哺乳類動物細胞的貼附及增生，基於上述種種優點，台創材UniTantrix® 可溶解型微載體於大規模量產生物製劑(或擴增幹細胞等細胞治療)提供更具成本效益的新穎材料。

UniTantrix® 微載體的優勢包括：

- ✿ 膠原蛋白(denatured collagen, BSE/TSE free certificate): 促進哺乳類動物細胞之貼附及增生。
- ✿ 高多孔率和高孔洞連通率：有效表面積大於 ~6000 cm² / g。
- ✿ 多孔結構保護細胞免受剪切力傷害：高細胞產量及高細胞活性。
- ✿ 可溶解性：高細胞回收率。
- ✿ 批次一致性。

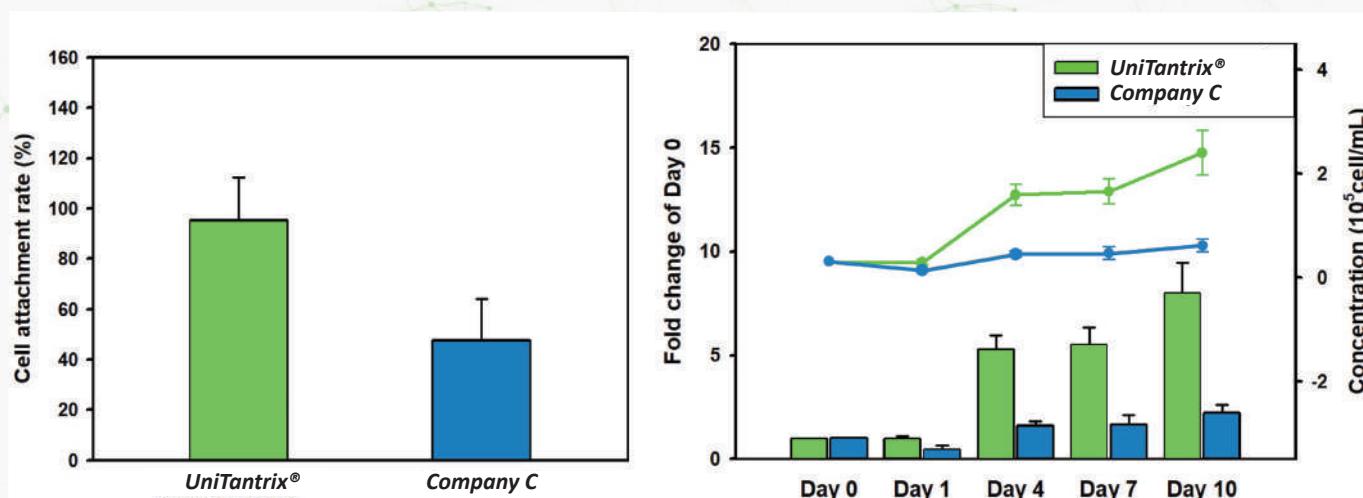


| Product Name | UniTantrix® Dissolvable Microcarriers |
|------------------------|---------------------------------------|
| Material | Denatured Collagen |
| Density | 1.0-1.1 g/ml |
| Microcarrier diameter | 300-1,000 μm (dry power) |
| Average pore diameter | ~150 μm |
| Average interpore size | ~30-50 μm |
| Surface area | ~6,000 cm ² /g |
| Dissolvability | Yes, with TrypLE or Trypsin-EDTA |

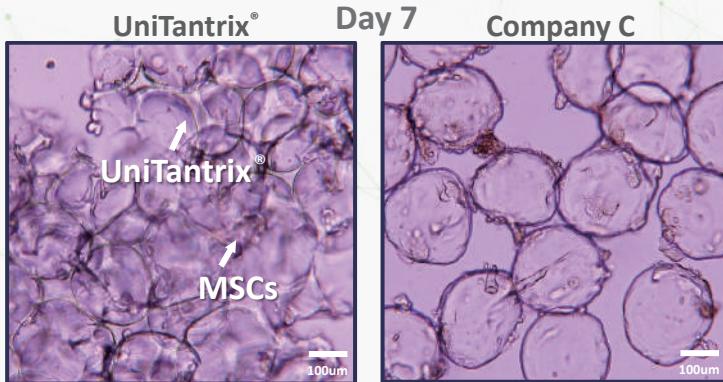
UniTantrix® 微載體應用案例

(A) 人類間質幹細胞(hMSC)培養量產

微結構高有效表面積 / 高細胞貼附 / 高細胞產量

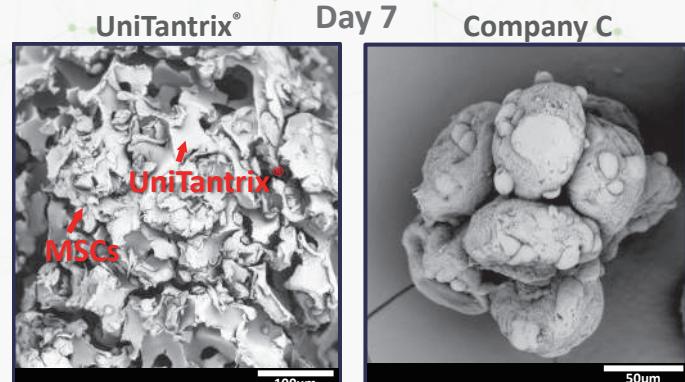


人類間質幹細胞培養於UniTantrix®之顯微鏡圖

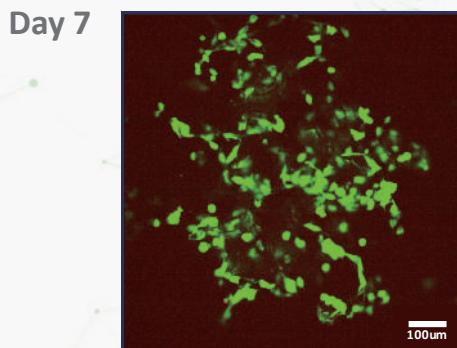


人類間質幹細胞培養於UniTantrix®之共軛焦顯微鏡圖

人類間質幹細胞培養於UniTantrix®之掃描式電子顯微鏡圖



人類間質幹細胞培養於UniTantrix®仍維持幹細胞良好活性及分化特性

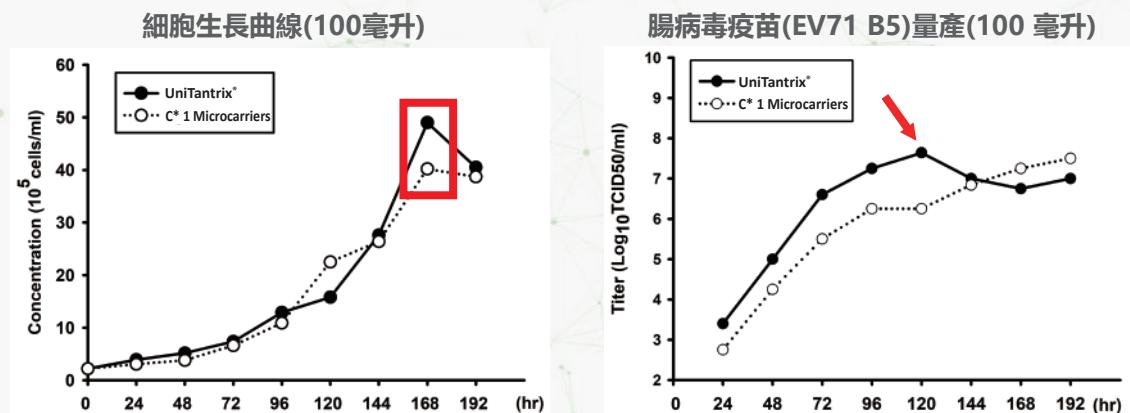


| Positive Markers | UniTantrix® | Company C |
|---------------------------------|-------------|-----------|
| CD90 | 98.93% | 94.75% |
| CD105 | 96.89% | 55.17% |
| CD73 | 99.93 | 99.95% |
| Negative Markers | UniTantrix® | Company C |
| CD34, CD11b, CD19, CD45, HLA-DR | 0.15% | 0.16% |

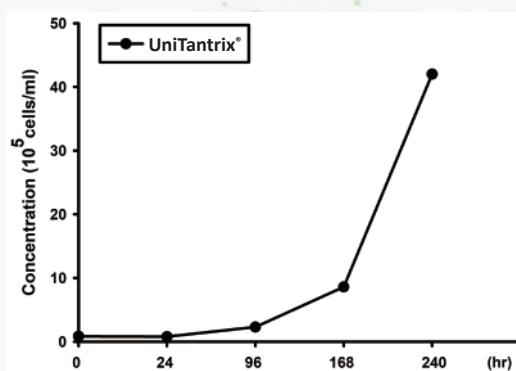
UniTantrix® 微載體應用案例

(B) Vero cell培養量產/腸病毒疫苗(Enterovirus 71 Vaccine)之量產
材料使用量少 / 短時間獲得大量細胞及疫苗產量

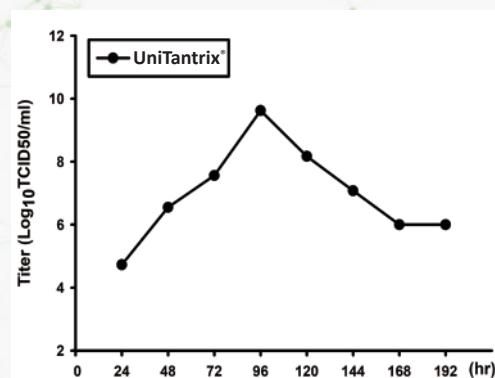
125 毫升之旋轉攪拌瓶(spinner flask)



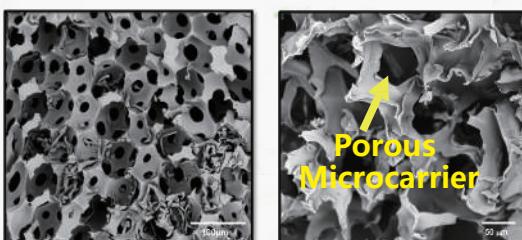
細胞生長曲線(5公升)



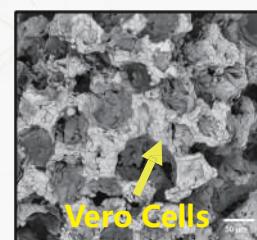
腸病毒疫苗(EV71 B5)量產(5公升)



UniTantrix® 微載體(Blank)

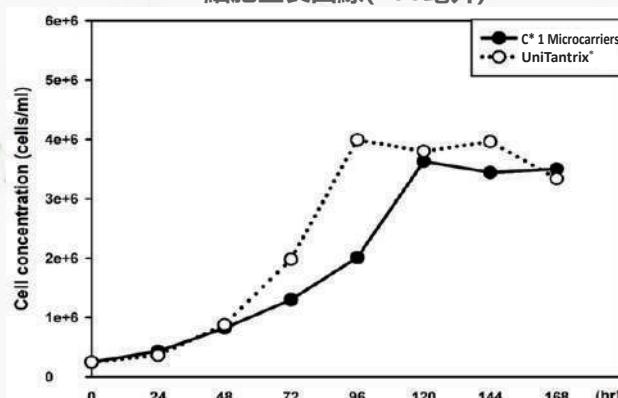


UniTantrix® 微載體(Vero Cell)



(C) HEK293細胞培養量產

細胞生長曲線(100毫升)



產品清單

PRODUCT CAT. NUMBER

PRODUCT SPECIFICATION

| | | |
|---------------------------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| UniTantrix® Microcarriers Dry Powder, 300-1,000 μm | GGBB120001-01 | UniTantrix® Dissolvable Microcarriers Collagen-based, weight 1 g/bottle, powder, sterile |
| | GGBB120005-01 | UniTantrix® Dissolvable Microcarriers Collagen-based, weight 5 g/bottle, powder, sterile |
| | GGBB120010-01 | UniTantrix® Dissolvable Microcarriers Collagen-based, weight 10 g/bottle, powder, sterile |
| | GGBB120020-01 | UniTantrix® Dissolvable Microcarriers Collagen-based, weight 20 g/bottle, powder, sterile |
| | GGBB120011-01 | UniTantrix® Dissolvable Microcarriers Collagen-based, weight 100 g/bottle, powder, sterile |
| | GGBB12G020-01 | UniTantrix® Dissolvable Microcarriers Collagen-based, weight 20 g/bottle, powder, sterile, GMP grade |
| | GGBB12G011-01 | UniTantrix® Dissolvable Microcarriers Collagen-based, weight 100 g/bottle, powder, sterile, GMP grade |



操作說明

UniTantrix® 可溶解型微載體

Store in dry box, 20°C - 25°C
Sterilized by gamma irradiation

Note:

UniTantrix® Dissolvable Microcarriers is only for *in vitro* use.

操作說明

※此操作說明僅適用於使用UniTantrix® 微載體進行細胞培養的使用者(以100毫升之體積為例)。

所需材料及設備

- ◊ UniTantrix® 微載體
- ◊ 砂化處理過的BELL-FLO™旋轉攪拌瓶(spinner flask/125 mL)或Corning® ProCulture® 旋轉攪拌瓶(spinner flask/125 mL)
(注意事項：使用玻璃旋轉攪拌瓶前，應於容器之內表面做砂化處理，以防止微載體粘附於玻璃容器)
- ◊ 慢速磁石攪拌器
- ◊ 細胞培養液(無血清來源亦可使用)
- ◊ 緩衝液(PBS，無鈣鎂磷酸鹽)
- ◊ 胨蛋白酶(Trypsin-EDTA or TrypLE)
- ◊ LIVE / DEAD™細胞毒性試劑盒(哺乳動物細胞適用)
- ◊ 37°C, 5%CO₂恒溫培養箱

UniTantrix®微載體浸潤(Hydration)

1. 秤取0.2克的UniTantrix® 微載體於砂化處理之玻璃旋轉攪拌瓶中。
2. 加入100毫升的緩衝液，最終濃度為2克/升(12平方公分/毫升)。
3. 利用高溫高壓滅菌釜使其浸潤(121°C, 20分鐘)。
4. 冷卻至室溫使用。



細胞培養液體平衡(Equilibration)

1. 靜置且自然沉降UniTantrix® 微載體。
2. 將緩衝液全部置換成50毫升的細胞培養液(總體積的一半)。
(注意事項：小心換液操作，不可吸取到UniTantrix® 微載體，且需沿著攪拌瓶壁加入培養液，以避免打入過多空氣至UniTantrix® 微載體內部。)
3. 將UniTantrix®/旋轉攪拌瓶放入細胞培養箱，以轉速40 rpm平衡至少10分鐘以上。



操作說明

細胞接種(Seeding)

A. 人類間質幹細胞(hMSC):

- 於含有0.2克UniTantrix® 微載體(6,000平方公分/克)的旋轉攪拌瓶中，接種 3×10^6 顆細胞數(初始接種細胞濃度為2,500顆細胞數/平方公分)。
- 放入細胞培養箱先以25 rpm轉速攪拌2分鐘後，再靜置30分鐘(0 rpm)。(注意事項：此為一個循環。)
- 重複上述之間歇性攪拌8個循環(8 cycles)。
- 8個循環結束後，將細胞培養液增補至100毫升再以25 rpm轉速持續攪拌。

B. Vero cell培養：

- 於含有0.2克UniTantrix® 微載體(6,000平方公分/克)的旋轉攪拌瓶中，接種 2.2×10^6 顆細胞數(初始接種細胞濃度為1,800顆細胞數/平方公分)。
- 植入細胞後，將細胞培養液增補至100毫升再以40 rpm轉速持續攪拌。



細胞擴增(Expansion)

A. 人類間質幹細胞(hMSC):

於幹細胞擴增時，應隨著培養天數其調整增加攪拌速度，以避免微載體間之團聚現象。

- 細胞接種一天後，增加至30 rpm轉速攪拌，第三天提升至轉速35 rpm，第五天提升至轉速45 rpm，第七天提升至轉速50 rpm。



B. Vero cell培養：

以40~50 rpm轉速持續攪拌，進行細胞擴增。

注意事項：

- 更換培養液時，更換總體積之70%的量即可，以總體積100毫升為例，更換培養液的體積為70毫升。而更換培養液的天數及體積因不同細胞種類做調整。
- 攪拌速度可因不同種類細胞或培養天數做即時調整。
- 對於超過七天之長期培養下，應隨時調整攪拌轉速以維持微載體於旋轉攪拌瓶中完全懸浮性。

細胞分析/觀察(Visualization)

- 於持續均質搖晃(homogeneously)的旋轉攪拌瓶中，緩慢吸取1毫升之細胞/微載體的懸浮液，放置平面多孔盤上(well plate)。
- 以倒立顯微鏡觀察微載體中的細胞或將細胞/微載體進行螢光染色觀察。



操作說明



細胞計數(Counting)

1. 於持續均質搖晃(homogeneously)的旋轉攪拌瓶中，緩慢吸取細胞/微載體的懸浮液1毫升並放入微量離心管(eppendorf)中。
2. 靜待細胞/微載體完全沉降微量離心管底部後，緩慢移除細胞培養液。
(注意事項：移除細胞培養液時，不可吸收到細胞/微載體。)
3. 移除細胞培養液後以緩衝液清洗三次。
4. 加入0.5~1毫升胰蛋白酶(Trypsin-EDTA or TrypLE)溶解細胞/微載體。
5. 放入細胞培養箱反應10-15分鐘。
6. 加入含血清的培養基或胰蛋白酶抑制劑來中止反應後，進行細胞計數。

細胞回收(Harvesting)

1. 將培養之旋轉攪拌瓶靜置10分鐘，直到所有細胞/微載體微載體皆沉降於攪拌瓶底部後，緩慢移除細胞培養液。(注意事項：移除細胞培養液時，不可吸收到細胞/微載體。)
2. 移除細胞培養液後以緩衝液清洗三次。
3. 加入30~50毫升胰蛋白酶(Trypsin-EDTA or TrypLE)溶解所有之細胞/微載體。
4. 混合均勻後並放置於37°C，並以轉速50 rpm反應15~20分鐘。
5. 微載體溶解後，回收所有細胞懸浮液至50毫升的離心管。
(注意：當微載體完全溶解後，加入含血清的培養基或胰蛋白酶抑制劑中止酵素反應以避免細胞傷害。)
6. 以轉速1200 rpm離心10分鐘。
7. 移除上清液後，再以新鮮的培養液回溶細胞。





台灣創新材料股分有限公司