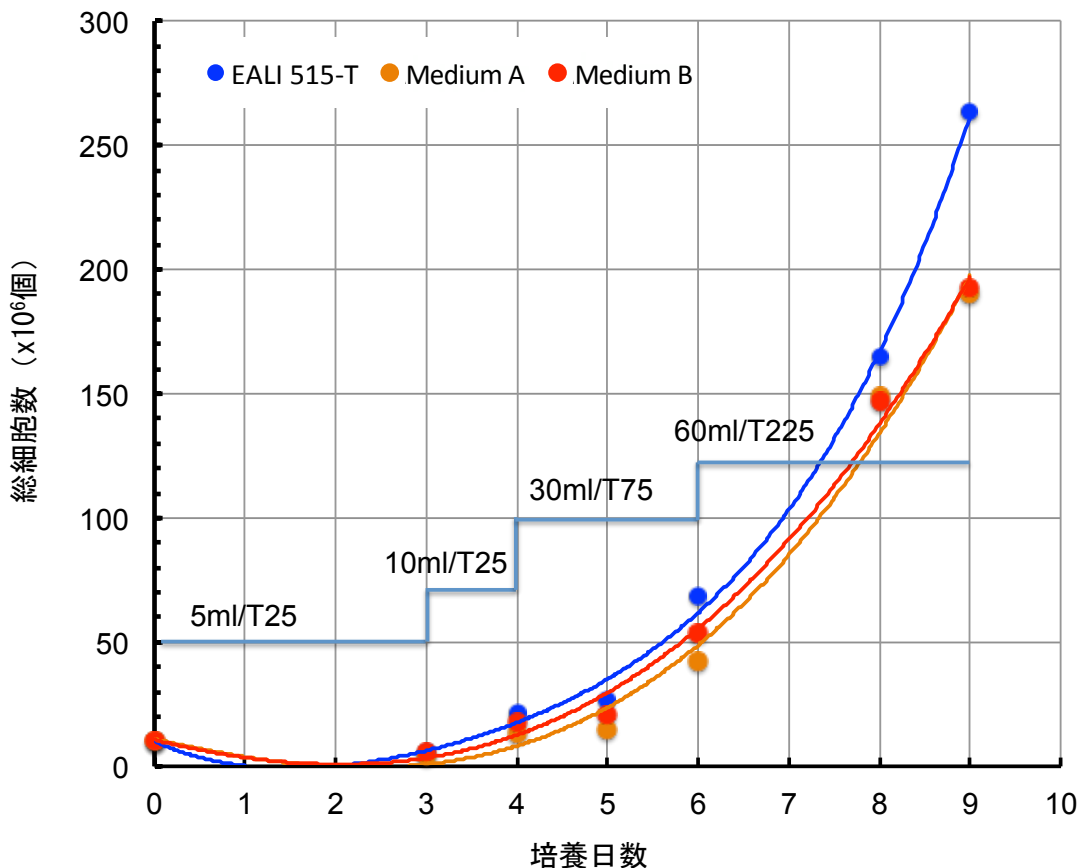


新培養液“EALI 515-T”の細胞培養試験

- 1, 培養液3種のT細胞培養試験
- 2, 新培養液での2バッグ、14日培養試験
- 3, 新培養液での $\gamma\delta$ -T細胞培養試験
- 4, 新培養液と他社製品で培養した細胞のCD4, CD8陽性細胞率の比較

新培養液“EALI 515-T”と他社培養液の 培養比較試験

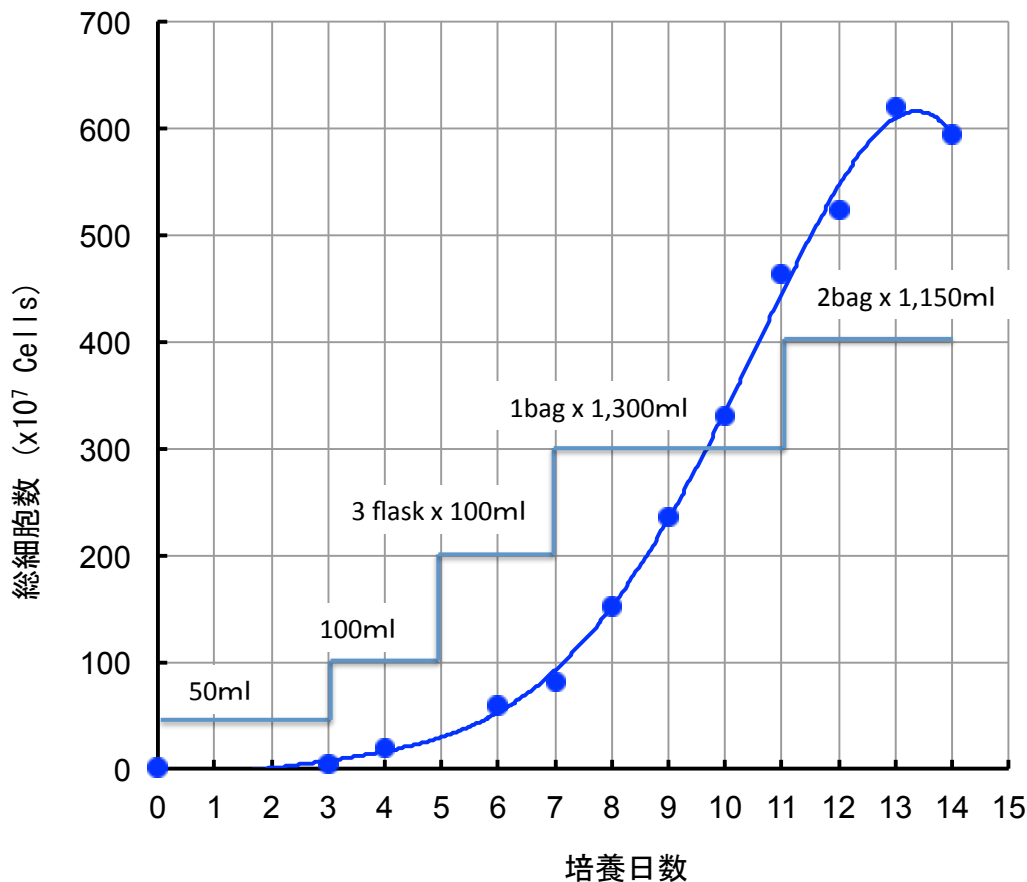
試験 1， OKT-3抗体を固相化した培養フラスコに末梢血リンパ球を植え込み、IL-2 175U/mlを含む3種類の培養液で9日間培養して細胞の増殖を比較した。使用した培養液量と培養フラスコはグラフの中に記載した。



結果： 新培養液 “EALI 515-T” は他社の培養液2種類を超える細胞増殖性能を示した。
培養9日目で培養液量60ml中の総細胞数は 2.6×10^8 個となった。

末梢血Tリンパ球の14日連続培養

試験2, 末梢血液20mlから単核球分画を分取し、接着性細胞を除いた後に非接着細胞のみをOKT3抗体を固相化した培養フラスコに、IL-2を含むEALI 515-T培養液50mlで植え込み、培養3日以降は図に示したスケジュールで培養液の追加と拡大培養を行い、最大培養液量2,300mlで14日間培養した。使用した自己血漿は5mLで、培養初期（1～3日）は10%、3日以降は血清を含まない培養液を追加し、培養11日以降は0.2%を維持した。IL-2の使用濃度は、初日から5日まで700U/mL, 6日以降は175U/mLとした。

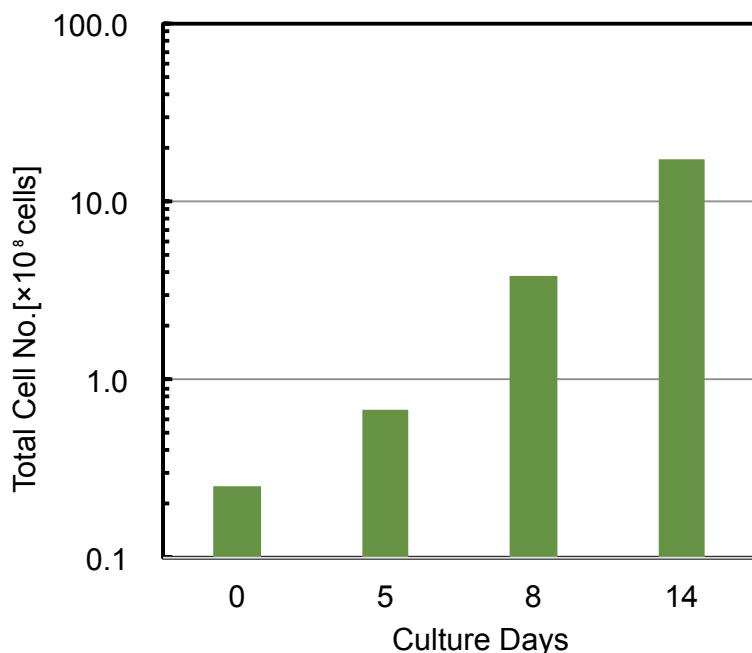


結果, 培養液の使用量2,300ml (1,150ml x 2 Bag) で13日目が増殖のピークとなり、総細胞数は 6.2×10^9 個、細胞密度は約 270×10^4 個/ml (生存率91%) になった。

新培養液“EALI 515-T”を用いた $\gamma\delta$ -T細胞の培養試験

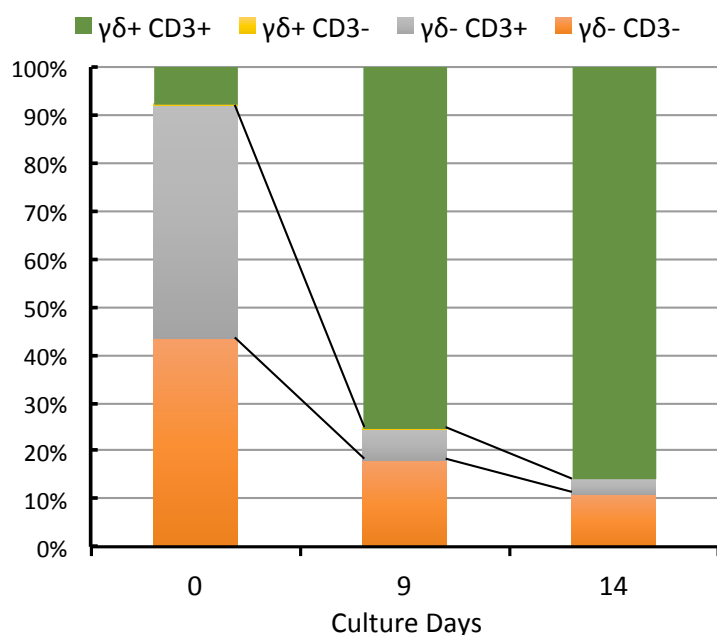
新培養液“EALI 515-T”培養液を使い末梢血中の $\gamma\delta$ -T細胞の培養を行った。 $\gamma\delta$ -T細胞の培養はゾレドロン酸を用いて、下記の論文を参考に、14日間、1,400ml (1 Bag) 培養を実施した。

論文： M Kondo, K Sakuta et al., Cytotherapy (2008) 10 (8), 842-856



細胞増殖

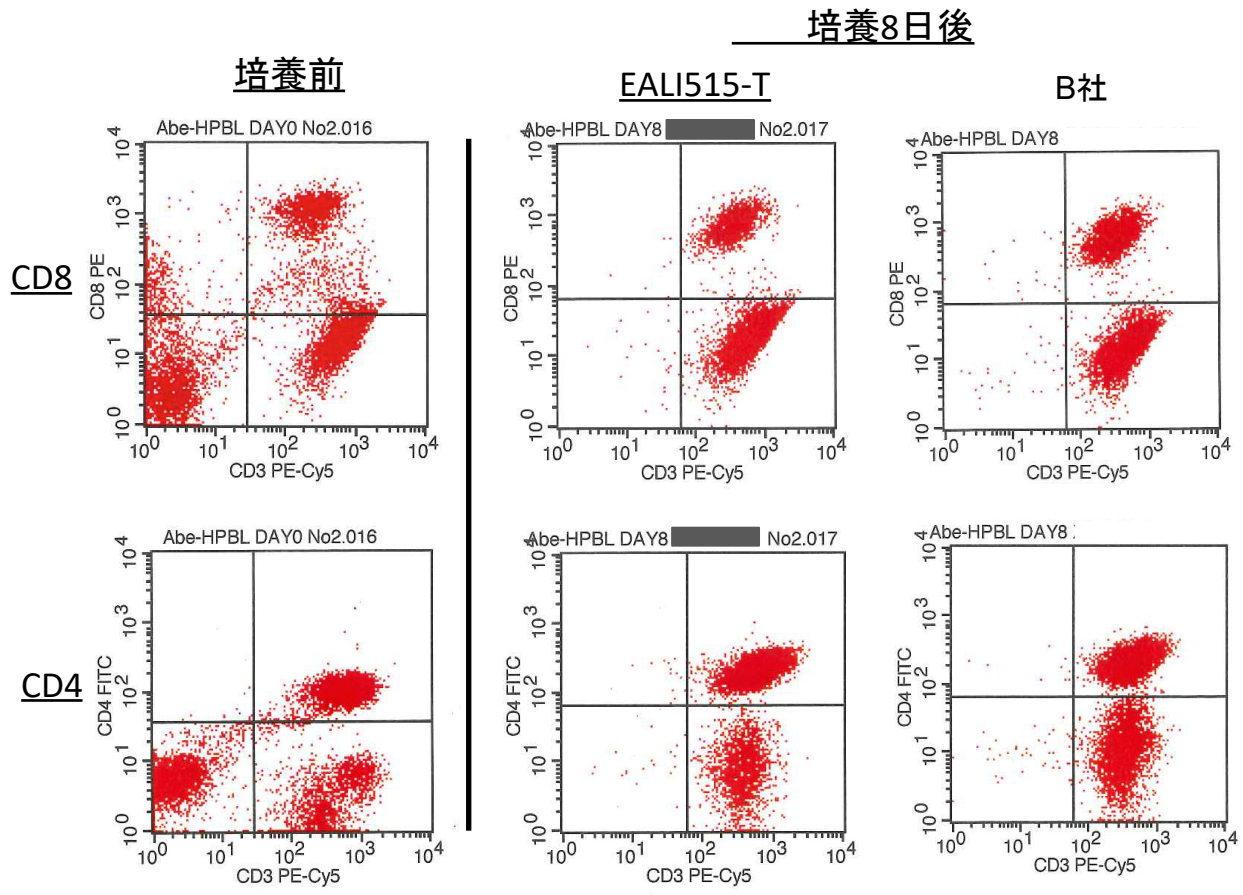
結果： 末梢血液20mlからPBMCを分離し、ゾレドロン酸 $5\mu\text{mol}$ で24時間処理した後、IL-2 700U/mlを含有する新培養液で14日間培養した。総培養液量は1,400ml.
細胞数は培養開始時 2.5×10^7 個から14日後には 1.7×10^9 個に達した。



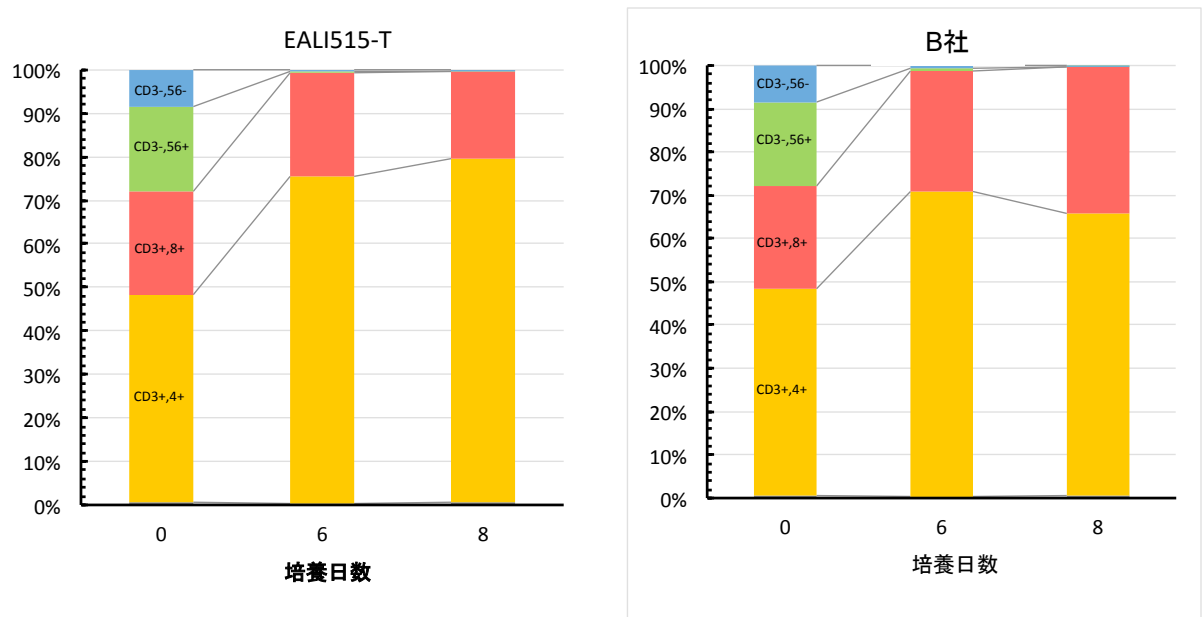
細胞表面抗原の分析

結果： 培養9日及び14日の細胞表面マーカーをフローサイトメトリーで分析した。培養前のPBMC中の $\gamma\delta^+ \text{CD}3^+$ 細胞の含有率は8.0%であったが、培養9日で75.5%、14日で89.1%に増加した。
14日目での $\gamma\delta$ -T細胞の拡大率は850倍であった。

新培養液EALI 515-Tと他社培養液で培養した細胞のCD4及びCD8陽性細胞率の比較



CD4,CD8,CD56陽性細胞率の推移



結果： 二種類の培養液の間でCD4、CD8陽性細胞率に大きな差は見られなかった