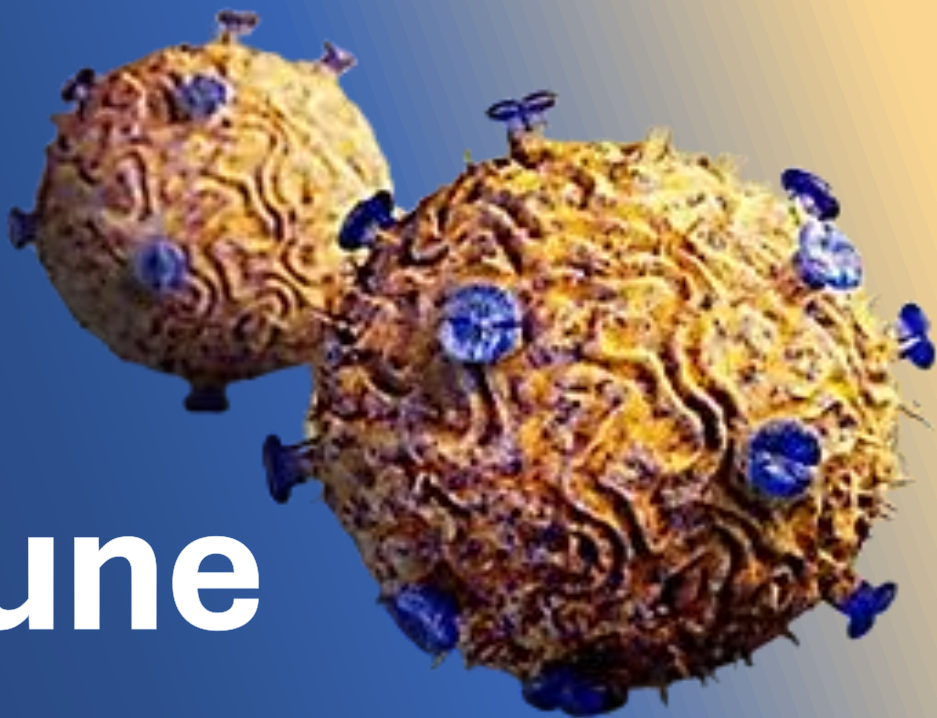


Immune Cell Therapy



瑞柏生物科技股份有限公司

RAINBOW BIOTECHNOLOGY CO., LTD.
0800-086-555 rainbow@rainbowbiotech.com.tw



瑞柏
官方帳號



ID: @rainbowbio

北區 02-2811-8200 桃竹苗 03-666-0116 中區 04-2315-2922 南區 07-550-0680

細胞治療是目前頗夯的領域，將自己的細胞 (autologous, 自體) 或別人的細胞 (allogeneic, 同種異體) 經體外培養及/或加工後 (改造、刺激誘導、活化或分化等等)，再將這些處理過之細胞輸回患者體內，它解決了目前許多無法治療的疾病問題。目前細胞治療分為兩種，免疫細胞治療及幹細胞治療。傳統的骨髓移植即為一種免疫細胞治療，將造血幹細胞移植到白血病人身上，使其分化成人類的白血球、紅血球與血小板，進而重新建立造血系統。

目前在臨床上較常使用的免疫細胞治療，包括T (CAR-T, TCR γ δ -T...) 細胞治療、NK (Natural killer) 細胞治療、樹突細胞 (Dendritic cell, DC) 治療、激素誘導殺手 (Cytokine-induced killer, CIK) 細胞治療、腫瘤浸潤淋巴 (Tumor-infiltrating lymphocytes) 細胞治療等等；幹細胞治療則分為造血幹細胞 (HSC, Hematopoietic stem cell)、間質幹細胞 (MSC, Mesenchymal stem cell)、神經幹細胞 (Neural stem cell)、誘導型幹細胞 (iPSC, Induced pluripotent stem cells) 治療等等。

免疫細胞治療之流程



免疫細胞
處理及分離

免疫細胞
培養

(細胞
基因工程)

細胞
活化及擴增

細胞鑑定
品質控制及分析

製劑
及冷凍保存

回輸
至人體

免疫細胞治療，一般稱為過繼性免疫療法 (Adoptive Cell Therapy, ACT)，抽取病人週邊血液後，分離出特定之免疫細胞，體外培養並大量擴增數量後再回輸給病人。其流程分為

- 免疫細胞處理及分離：使用自動化機器或密度梯度分離液，從病患的血液中分離出富含淋巴細胞的單核球細胞 (PBMC)，之後再利用偶聯特定抗體之磁珠分離及富集 (Enrichment) 特定族群之免疫細胞。
- 細胞培養：使用一般細胞培養耗材、高透氣細胞培養系統(G-Rex)或擺動型生物反應器，搭配特定細胞之培養基，於體外培養擴增細胞。
- 細胞基因工程改造細胞：一般分為病毒形式或非病毒形式，可將欲表現/改造之基因轉染至病毒載體，包裹出病毒顆粒後，利用病毒轉導(transduction)細胞。非病毒方式則利用跳躍子/轉座子(transposon)系統以電穿孔方式轉染細胞或CRISPR/Cas9於特定位點上剃入(knock in)基因。
- 細胞活化及擴增：分離出來之免疫細胞，於體外加入數種細胞因子(抗體及或細胞激素)誘導使其活化、分化，並進行多天培養以擴增細胞。
- 細胞鑑定、品質控制及分析：人類細胞治療產品之放行測試，包括安全性 (無菌性、黴漿菌與內毒素)、產品特性鑑別 (亦即表現型、基因型及其他標記)、純度、效價、存活率、細胞數量/劑量等等。
- 製劑及冷凍保存：目前在凍存方面，對於冷凍保存液並無一定之規範，故使用含DMSO抗凍劑或無血清之冷凍保存液皆可，主要關鍵在於維持細胞解凍後之存活率與復甦程度。冷凍時選擇合適之冷凍保存液、優化降溫速率；解凍時也應避免被動式的回溫，並在過程中盡快移除凍存液。





■ 白血球分離術 (leukapheresis) : 抽取病人血液後，利用機器自動分離出淋巴球細胞 (lymphocyte)。

Sefia™ S-2000 細胞處理系統

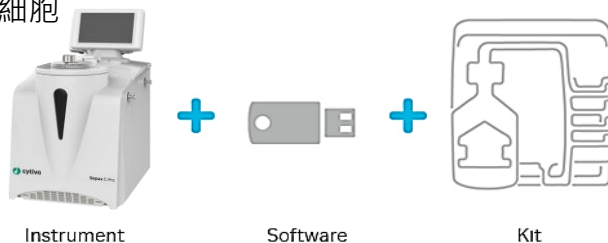
- 用於細胞治療產品放大生產之多功能自動化封閉式系統
- 可自動分離、收獲及製劑細胞產品
- 可全自動化且封閉式的分離、培養、擴增及凍存細胞
- 最大初始處理體積10L，最終體積範圍選擇多
- 可搭配依一次性耗材
- 資料及警示可遠端監控或合併自動化軟體 (Chronicle) 操作並進行電子紀錄 (eSOP)



軟體	建議耗材	應用
PremierCell	CT-300.1	細胞濃縮、血小板去除、進行基於密度梯度離心的分離並重懸最終產品
FlexCell	CT-800.1	採用連續流技術對最多10L的細胞產品進行離心濃縮、洗滌和製劑

Sepax C-Pro 細胞處理機

- 一台小型精巧、符合GMP規範之封閉式且全自動化系統
- 可自動分離、收獲及製劑細胞產品
- 可用於製備CAR T 細胞、自然殺手細胞 (NK cells) 及其他種類細胞



Sepax C-Pro

□ 上游：選擇並製備細胞

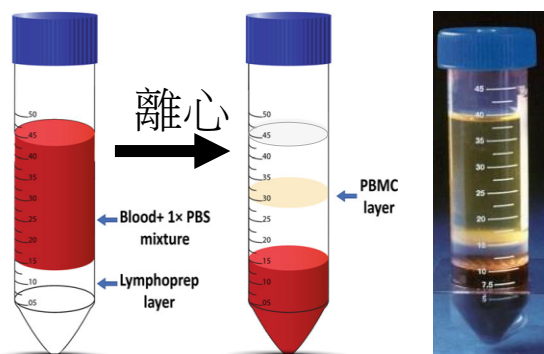
軟體	建議耗材	應用
PeriCell C-Pro	CT-49.1	去除白血球分離術血品內的血漿，進行細胞濃縮
PlateletFree C-Pro	CT-60.1	洗滌並去除白血球分離術血品內之血小板，進行細胞濃縮
BeadWash C-Pro	CT-60.1 或 CT-90.1	主要用於細胞磁珠分選技術之前置作業。依序為濃縮、去血小板、磁珠結合、洗滌多餘磁珠。
NeatCell C-Pro	CT-90.1	透過梯度密度分離液，將顆粒球細胞及紅血球去除，以分離出單核球細胞
SpinOcultation C-Pro	CT-60.1	使病毒載體透過離心方式自動進行轉導，進而有效執行基因轉移

□ 下游：收獲和重懸細胞

軟體	建議耗材	應用
CultureWash C-Pro	CT-60.1 或 CT-90.1	洗滌並去除擴增培養後細胞產品內之細胞碎片、抗凍劑、游離血紅素，並濃縮或置換培養液。
Dilution C-Pro	CT-49.1 或 CT-60.1 或 CT-90.1	稀釋細胞製品並分裝至細胞培養袋中(最多5袋)，以進行準確給藥



■ 密度梯度分離液 (density gradient media) : 收集(周邊血)全血後，利用密度梯度進行離心



Lymphoprep™ : 來自於德國藥廠，與Ficoll相同規格之密度梯度分離液

- 室溫(避光)儲存，隨取即用
- 內毒素含量低 (<1.0 EU/ml)，實測值 < 0.1 EU/ml
- 遵照GMP及ISO13485認證製造
- 為塑膠瓶-橡膠蓋無菌包裝，可直接以點滴架吊掛輸液至自動化機器，全自動分離PBMC
- 可取代 Ficoll-Paque/Premium及 Histopaque 1077

Reference:

1. Hamada S, et al. Development of T cell receptor-engineered T cells targeting the sarcoma-associated antigen papillomavirus binding factor. *Cancer Sci.* 2024 Jan;115(1):24-35.
2. Watanabe Y, et al. Development of CAR-T cells specifically targeting cancer stem cell antigen DNAJB8 against solid tumours. *Br J Cancer.* 2023 Mar;128(5):886-895.

■ 分離及富集 (Enrichment) 特定族群之免疫細胞

□ 磁珠分離套組

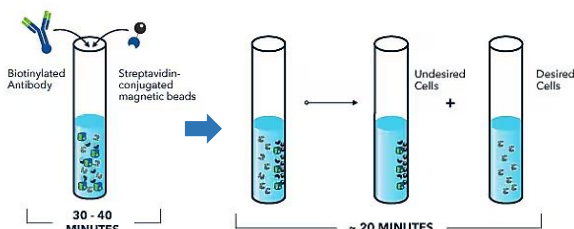
- 為高結合能力之微珠 (磁性奈米粒子)，直徑約為150 nm
- 微珠為鐵磁流體 (ferrofluid)，無磁性記憶，不會對細胞造成傷害
- 在幾十分鐘內，即可分離高純度的細胞



*磁架可容納 6支5mL
或 2支15mL管子

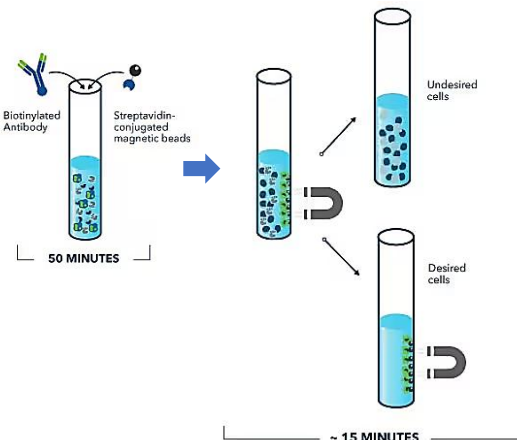
Negative Selection Kits 負向篩選套組

- 利用磁珠吸附住不想要之細胞
- 可富集欲分離之細胞
- 分離之細胞不會被抗體結合住，可應用於下游之實驗



Positive Selection Kits 正向篩選套組

- 可從混雜之樣品中，篩選出少量之細胞族群
- 分離之細胞純度高
- 包含後續純度分析之螢光標定抗體 (流式細胞儀)



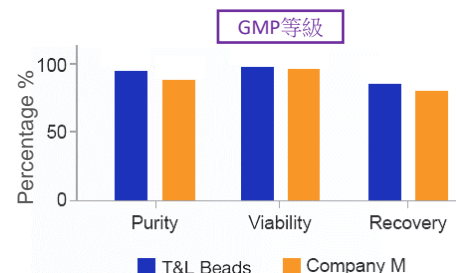
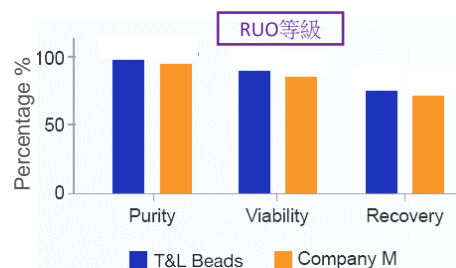
□ NanoSep™ 細胞分離磁珠

- 以人源化改造之抗體直接標定
- 為 50nm 之奈米磁珠，為生物可降解性，不需另外移除
- 非目標細胞之殘留量少
- 可用於column-based 或 column-free方式分離
- 效能與市面上知名大廠相當
- 包裝彈性，可接受客製化

● CAR-T isolation

T cell marker	T Cells Isolation	等級
CD4 ⁺ T cell	MagCollect Human CD4 ⁺ T Cell Isolation Kit	RUO
	NanoSep CD4 separation magnetic beads	RUO (TL-623), GMP (GMP-TL623-5000)
CD8 ⁺ T cell	MagCollect Human CD8 ⁺ T Cell Isolation Kit	RUO
	NanoSep CD8 separation magnetic beads	RUO (TL-624), GMP (GMP-TL624-5000)

□ 使用 NanoSep CD4及CD8磁珠分離T細胞

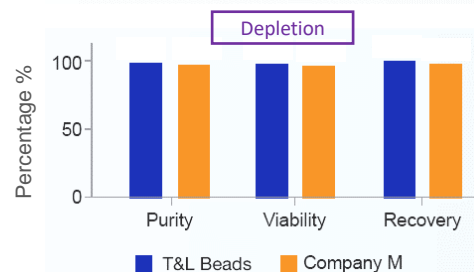
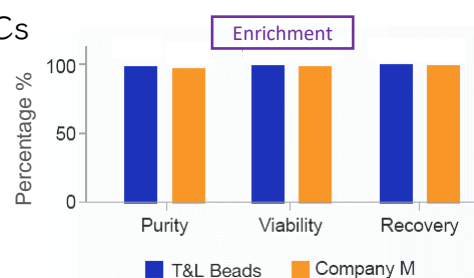


● CAR-NK Isolation (T cell depletion /NK cell enrichment)

NK細胞來源: PBMCs, 臍帶血, NK92細胞株, CD34 + HPCs, iPSCs

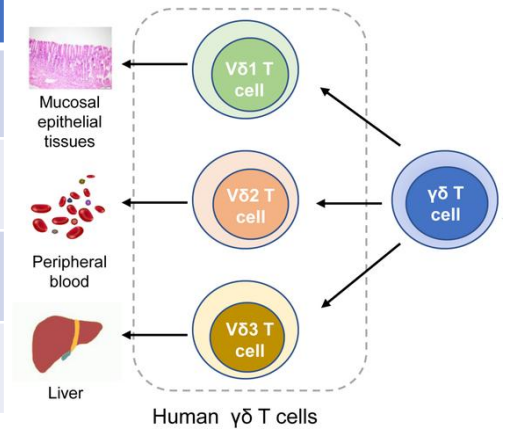
T cell marker	T Cells depletion	等級
CD3 ⁺ T cell	MagCollect Human CD3 ⁺ T Cell Isolation Kit	RUO
	NanoSep CD3 separation magnetic beads	RUO (TL-622), GMP (GMP-TL622-5000)
NK cell marker	NK Cells enrichment	等級
CD3 ⁻ CD56 ⁺	MagCollect Human NK Cell Isolation Kit	RUO
	NanoSep CD56 separation magnetic beads (Coming soon....)	RUO, GMP

□ 使用 NanoSep CD3磁珠分離CD3⁺T細胞



● **γδ-T cell Isolation** : peripheral blood (PB)或 leukocytapheresis (LP) →PBMCs
 →擴增 →分離出 γ δ +T 細胞 或 排空(deplete) α β +T 細胞 ** γδ T細胞在人類血液中主要為Vγ9Vδ2

T cell marker	T Cells Isolation	等級
TCRVδ2+ T cell	Biotin conjugated TCR Vdelta2 Antibody + MagCelect Streptavidin Ferrofluid	RUO
TCRVδ1+ T cell	NanoSep TCRVδ1 separation magnetic bead (Coming soon....)	RUO, GMP
TCRVαβ+ T cell	NanoSep TCRVαβ separation magnetic bead (Coming soon....)	RUO, GMP
TCRVγδ+ T cell	NanoSep TCRVγδ separation magnetic bead (Coming soon....)	RUO, GMP



Human γδ T cells
Front Immunol. 2020; 11: 1600.

● **CIK cell Isolation**: peripheral blood (PB)或 leukocytapheresis (LP) →PBMCs或臍帶血→CD3+CD56+ NKT細胞

CIK cell marker	CIK Cells Isolation	等級
CD3+ CD56+	Biotin conjugated NCAM-1/CD56 Antibody + MagCelect Streptavidin Ferrofluid	RUO

● **TIL cell extraction & Isolation**: 切除及剝離出腫瘤細胞(酵素作用)→富集CD8+ T細胞或排空(deplete) Treg細胞 (CD4+ CD25+)

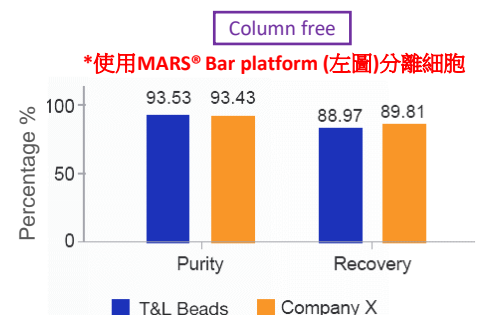
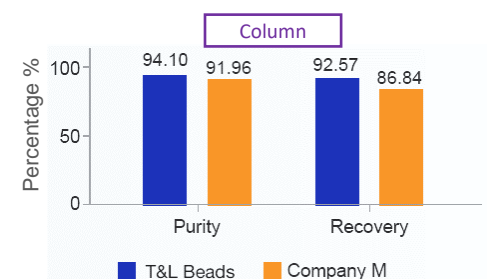
酵素類型	貨號
DNase I, Bovine pancreas	HY-108882
Neutral protease, Paenibacillus polymyxa	HY-131577
Collagenase I, from Clostridium histolyticum	HY-O0004
Recombinant Trypsin Solution	HY-129047B
Hyaluronidase	HY-107910

T cell marker	T Cells Isolation	等級
CD8+ T cell	MagCelect Human CD8+ T Cell Isolation Kit	RUO
CD4+ CD25+ Treg cell	MagCelect Human CD4+ CD25+ Regulatory T Cell Isolation Kit	RUO

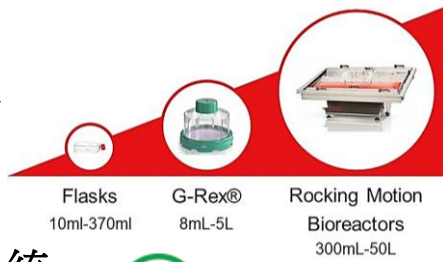
● **DC cell Isolation**: (HSC, iPSC) PBMcs→分離 CD14+單核球

DC marker	Dendritic Cells Isolation	等級
CD14+	MagCelect™ Human CD14+ Cell Isolation Kit	RUO
CD14+	NanoSep CD14 separation magnetic bead	RUO (TL-625), GMP (Coming soon....)

□ 使用NanoSep CD14磁珠分離單核球細胞



免疫細胞培養



專業細胞培養塑膠耗材製造廠

- ISO 9001:2000認證
- 低溫高分子材料表面處理技術
- 無塵室中製造
- 醫療級 Gamma 滅菌技術
- DNase, RNase, Pyrogen Free

■ 一般細胞培養系統



Flask 細胞培養瓶



Plate 細胞培養盤



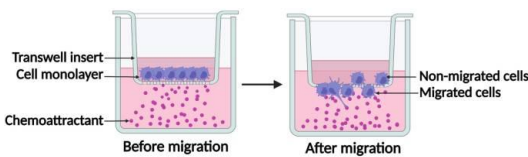
Roller bottle 細胞培養滾瓶



Erlenmeyer flask (Filter cap) 細胞培養錐形瓶



Transwell Migration Assay



Tissue culture plate Insert 細胞嵌入皿



產品編號	名稱	包裝
TCF-011-050	25T Flask Sterile 10/pk 培養瓶	200/cs
TCF-011-250	75T Flask Sterile 5/pk 培養瓶	100/cs
TCF-011-600	175T Flask Sterile 5/pk 培養瓶	40/cs
TCF-012-050	25T Flask (Filter Cap) Sterile 10/pk 培養瓶	200/cs
TCF-012-250	75T Flask (Filter Cap) Sterile 5/pk 培養瓶	100/cs
TCF-012-600	175T Flask (Filter Cap) Sterile 5/pk 培養瓶	40/cs

產品編號	名稱	包裝
TCP-011-096	96-well TC Plate 培養盤 (單一滅菌包裝)	100/cs
TCP-012-096	96-well TC Plate U底培養盤 (單一滅菌包裝)	100/cs
TCP-011-048	48-well TC Plate 培養盤 (單一滅菌包裝)	100/cs
TCP-011-024	24-well TC Plate 培養盤 (單一滅菌包裝)	100/cs
TCP-011-012	12-well TC Plate 培養盤 (單一滅菌包裝)	100/cs
TCP-011-006	6-well TC Plate 培養盤 (單一滅菌包裝)	100/cs

產品編號	名稱	包裝
TCB-011-001	Roller Bottles, 1000ml, TC treated 細胞培養滾瓶	24/cs
TCB-012-001	Roller Bottles, 1000ml, TC treated (Filter Cap) 細胞培養滾瓶	24/cs
TCB-011-002	Roller Bottles, 2000ml, TC treated 細胞培養滾瓶	12/cs
TCB-012-002	Roller Bottles, 2000ml, TC treated (Filter Cap) 細胞培養滾瓶	12/cs
TCB-011-005	Roller Bottles, 5000ml, TC treated 細胞滾瓶	12/cs
TCB-012-005	Roller Bottles, 5000ml, TC treated (Filter Cap) 細胞培養滾瓶	12/cs

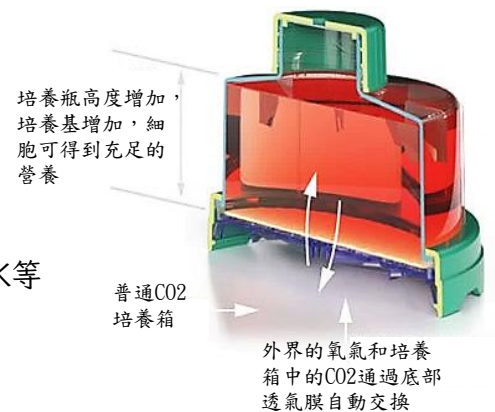
產品編號	容量	瓶身材質	瓶底型式	包裝
TAB-102-125	125 ml	PETG	Plain (瓶底)	24/cs
TAB-102-250	250 ml		Plain (瓶底)	12/cs
TAB-102-500	500 ml		Plain (瓶底)	12/cs
TAB-102-000	1000 ml		Plain (瓶底)	24/cs
TAB-002-125	125 ml	PC	Plain (瓶底)	24/cs
TAB-002-250	250 ml		Plain (瓶底)	12/cs
TAB-002-500	500 ml		Plain (瓶底)	12/cs
TAB-002-000	1000 ml		Plain (瓶底)	24/cs
TAB-112-125	125 ml	PETG	Baffled (角底)	24/cs
TAB-112-250	250 ml		Baffled (角底)	12/cs
TAB-112-500	500 ml		Baffled (角底)	12/cs
TAB-112-000	1000 ml		Baffled (角底)	24/cs
TAB-012-125	125 ml	PC	Baffled (角底)	24/cs
TAB-012-250	250 ml		Baffled (角底)	12/cs
TAB-012-500	500 ml		Baffled (角底)	12/cs
TAB-012-000	1000 ml		Baffled (角底)	24/cs

培養盤	材質	孔徑	嵌入直徑	包裝 (pk/cs)
6-well	PC	0.1, 0.4, 1, 3, 8, 12 μm	24mm	6/24
12-well			12mm	12/48
24-well			6.5mm	12/48
6-well	PET	0.1, 0.4, 1, 3, 8 μm	24mm	6/24
12-well			12mm	12/48
24-well			6.5mm	12/48

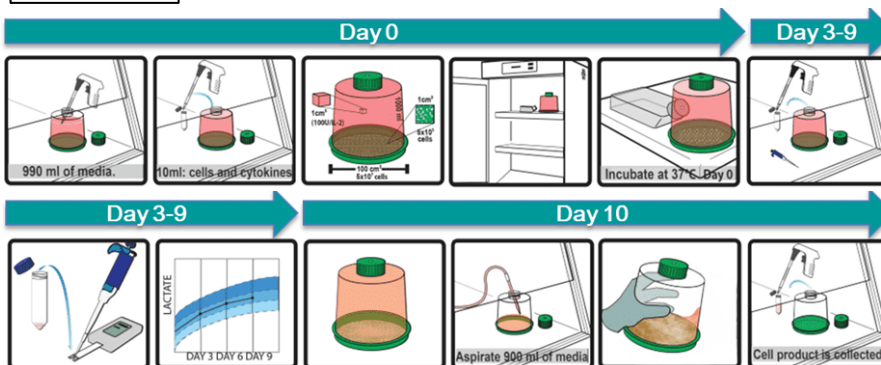
WILSONWOLF ■ G-Rex 高透氣免疫細胞培養系統

- 底部具特殊設計之通氣膜：可加入大量培養基，而不需犧牲氣體交換
- 高密度細胞培養：10天內T細胞可擴至少100倍
- 一次性加入培養基，不需換液及處理細胞，減少汙染風險
- 操作簡單不需離心，只要吸除90%培養基，即可輕鬆收獲細胞
- 使用封閉管路產品可符合GMP規範
- 適合懸浮細胞培養，例如：
 - 用於細胞治療之免疫細胞，如CAR-T、TCR-T、TIL、NK、CIK等
 - 融合瘤細胞、CHO細胞、sf9 細胞等單株抗體或重組蛋白生產

G-Rex剖面圖



操作流程



以 G-Rex®100M 培養 T 細胞為例：

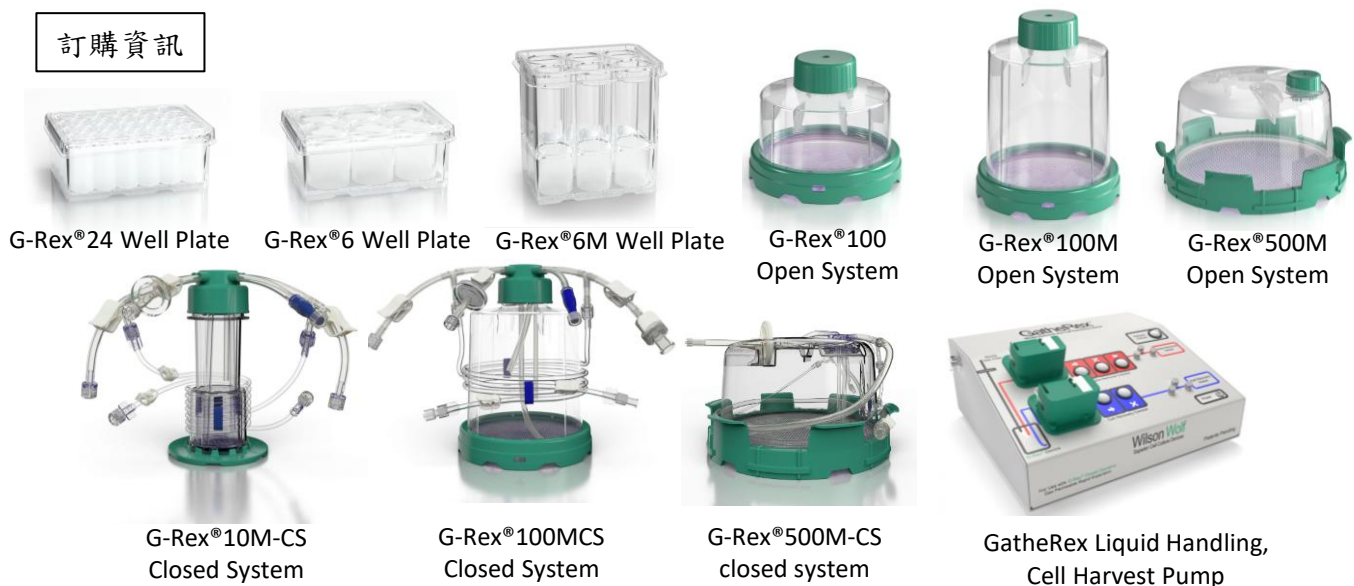
Day 0：加入 990ml 之培養基，再加入 10 ml 培養基(內含 5×10^7 細胞及細胞激素)，靜置於 37°C CO₂ 培養箱中培養

Day 3-9：培養過程中，可取樣計算細胞數或是測量乳糖代謝

Day 10：小心取出 G-Rex，勿搖晃到，吸掉 900ml 培養液。最後使用剩餘之培養液，緩和搖晃將細胞懸浮後，即可吸取細胞。

**放大培養前建議先以 G-Rex® 6 Well 或 24 Well Plate 進行條件測試。 **

訂購資訊



品名	貨號	培養基	氣體通透面積	等級	包裝
G-Rex® 24 Well Plate	80192M	8mL	2 cm ²	RUO	1/pk
G-Rex® 6 Well Plate	80240M	40mL	10 cm ²	RUO	1/pk
G-Rex® 6M Well Plate	80660M	100mL	10 cm ²	RUO	1/pk
G-Rex® 100 Open System	80500	450 mL	100 cm ²	GMP	3/pk
G-Rex® 100M Open System	81100	1000 mL	100 cm ²	GMP	3/pk
G-Rex® 500M Open System	G285500	5000 mL	500 cm ²	GMP	2/pk
G-Rex® 10M-CS Closed system	80110-CS	100 mL	10 cm ²	GMP	3/pk
G-Rex® 100M-CS Closed system	81100-CS	1000 mL	100 cm ²	GMP	3/pk
G-Rex® 500M-CS Closed system	G285500-CS	5000 mL	500 cm ²	GMP	2/pk
GatheRex Liquid Handling, Cell Harvest Pump	80000E	compatible with all closed system G-Rex models			
	80000Z	for the G-Rex500M-CS only			



擺動運動型生物反應器：可利用灌流方式加入營養物質及移除生長抑制物，簡化製造流程。

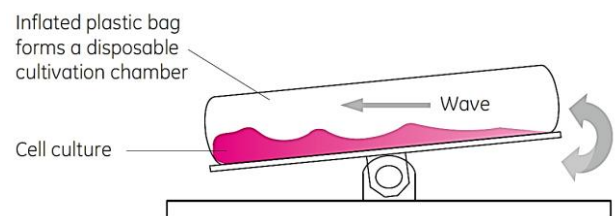
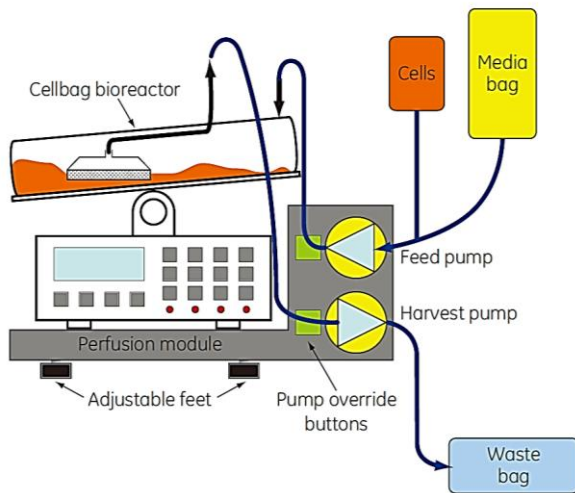
Xuri™ Cell Expansion System 細胞擴增系統

- ✓ 自動化且可控制的細胞生長環境
- ✓ 封閉式系統將細胞污染降至最低
- ✓ 通過自動灌流提高細胞密度 (細胞數量可 $>10 \times 10^6$ cells/mL，體積最大可達25L)
- ✓ 在低剪切的環境下可進行非侵入性的混合、灌流培養基及有效傳遞氧氣
- ✓ 搭配Xuri™ Cellbag™一次性細胞培養袋使用

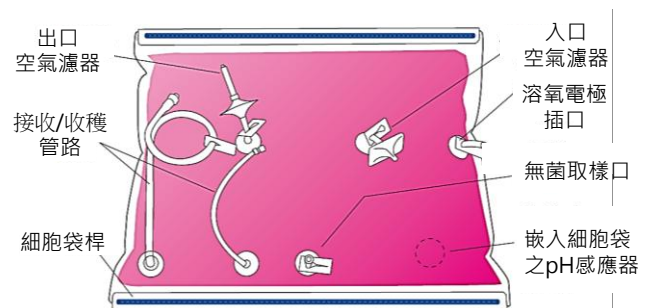


WAVE™ 25 Bioreactor 波浪式生物反應器 (0.1-500L)

- ✓ 一次性的細胞培養系統
- ✓ 具整合性之溫度感應器及荷重計(load cell)，可精準測量溫度及重量
- ✓ 可處理最大體積25 L之細胞培養
- ✓ 系統附尾器過濾與加熱器
- ✓ 易於線性放大
- ✓ 特殊設計，適合懸浮和微載體培養
- ✓ 可滿足包括哺乳動物的各種細胞培養應用：分批 (Batch) 培養、補料分批 (Fed Batch) 培養、灌流培養 (Perfusion)、貼壁細胞培養
- ✓ 目前已用於臨床細胞治療時，大量生產T淋巴球細胞，亦成功培養NK細胞、嗜中性顆粒球及腫瘤浸潤淋巴球細胞 (TIL)



WAVE擺動平台示意圖



Cellbag細胞培養袋示意圖

WAVE生物反應器由三個功能元件組成：

- ① **擺動平臺**：觸控螢幕設計，可輸入培養袋型號，選擇最佳溫控參數自動調節功率輸出。可選擇秤重功能(load cell)，可設定灌注速率進行自動連續灌注培養。
- ② **一次性細胞培養袋 Cellbag™**：可根據實際應用需求，選擇不同接口數量和種類的細胞培養袋。
- ③ **通氣系統**：空氣幫浦可選擇CO₂或O₂混合功能，可用於不同種類細胞培養或發酵應用。

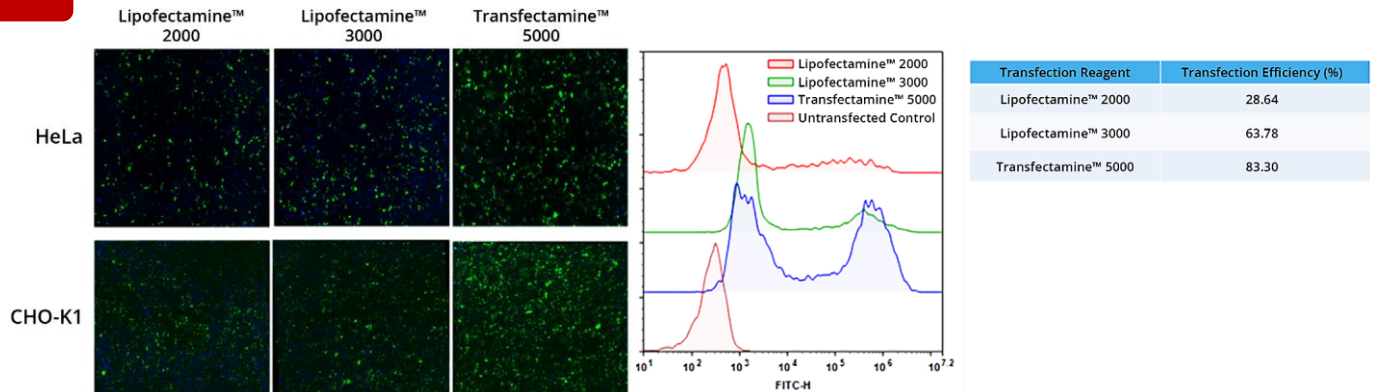
生物反應器系統	培養體積	搭配細胞培養袋 (Cellbag™)
SYSTEM2/10	0.1-5L	1x2L 或 1x10L
SYSTEM20/50	0.1-10L (25L)	2x2L 或 2x10L, 1x20L 或 1x50L
SYSTEM200	5-100L	2x100L 或 1x200L
SYSTEM500/1000	50-500L	2x500L 或 1x1000L

■ 細胞轉染試劑

用途	品名	特性	等級
Transfection Reagent	Transfectamine™ 5000 Transfection Reagent (0.5mL, 1mL, 5mL)	<ul style="list-style-type: none"> ● 操作簡單，用途廣 (plasmid DNA、siRNA或shRNA) ● 毒性低，細胞存活率高 ● 轉染效率高 ● 適用細胞範圍廣 (貼附型細胞株、懸浮細胞株，包括難轉染之細胞) 	RUO

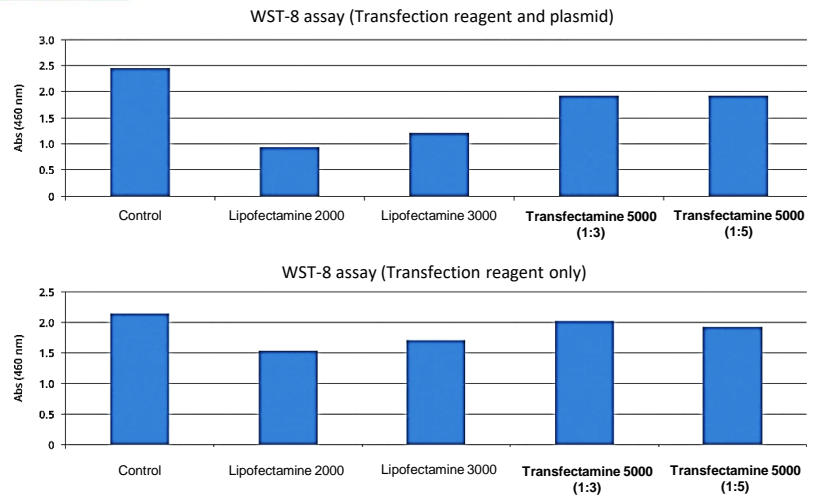
轉染效率高

□ 使用Transfectamine™ 5000 將plasmid 送入HeLa及CHO-K1細胞 (與Lipofectamine 2000, 3000比較)



細胞毒性小

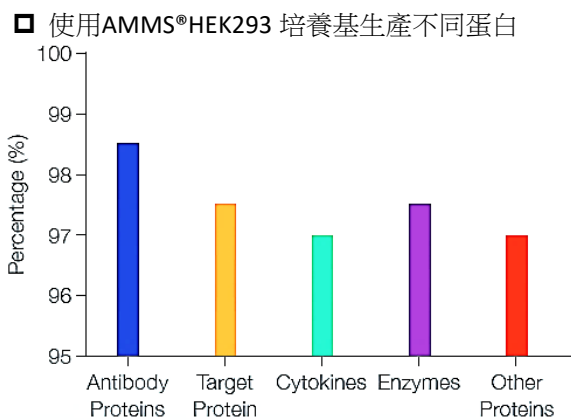
□ 使用不同試劑轉染CHO-K1 細胞後，細胞之存活率 (使用WST-1 Assay)



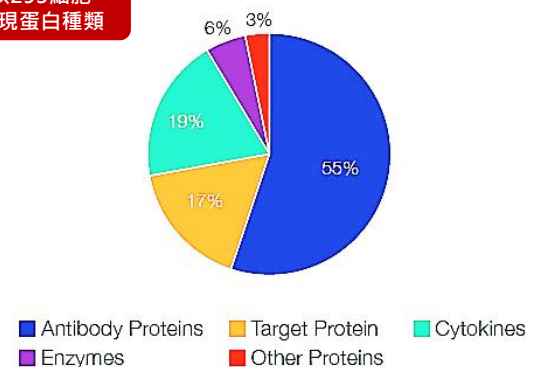
■ 293細胞 (無血清) 培養基

用途	品名	特性	等級
Culture Media	AMMS®HEK293 Serum-free Medium (1000mL)	<ul style="list-style-type: none"> ● 適合懸浮培養及轉染HEK293細胞 ● 為化學成分限定培養基，不含任何動物成份成分，含酚紅及Glutamine ● 培養之細胞密度高、存活率高 	RUO
	AMMS®HEK293 Supplementation Medium (100mL)	<ul style="list-style-type: none"> ● 無血清、無動物來源成分 ● 為化學成分限定培養基，不含任何動物成份成分，含酚紅及Glutamine ● 轉染後使用，可維持細胞存活度，增加重組蛋白產量 	RUO

不同蛋白表現之成功率



以293細胞表現蛋白種類



細胞活化及擴增



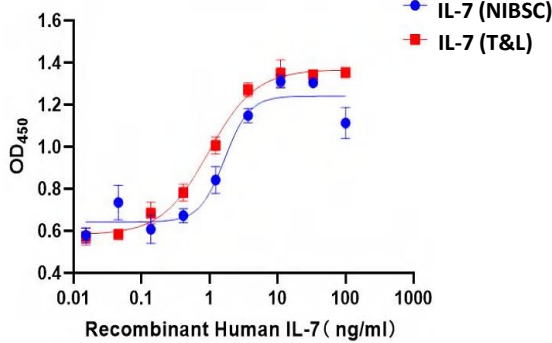
GMP等級之重組蛋白及抗體



- ✓ 純度高 (SDS-PAGE) > 95%
- ✓ 活性高 > 5×10⁶ IU/mg
- ✓ 低內毒素 < 0.01 EU/μg
- ✓ 宿主細胞之DNA殘留 < 50 ng/mg
- ✓ 每一批皆經過黴漿菌、病毒及無菌性檢測
- ✓ 批次與批次間一致性高
- ✓ 具穩定性資料
- ✓ 宿主細胞之蛋白質殘留 < 100 ppm

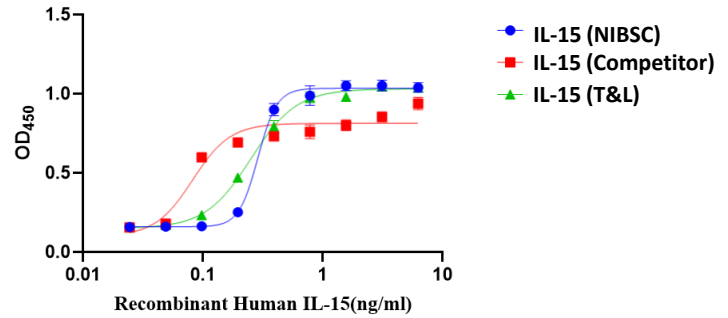
特定活性高 (specific activity)

使用人類重組蛋白IL-7刺激PBMC增生



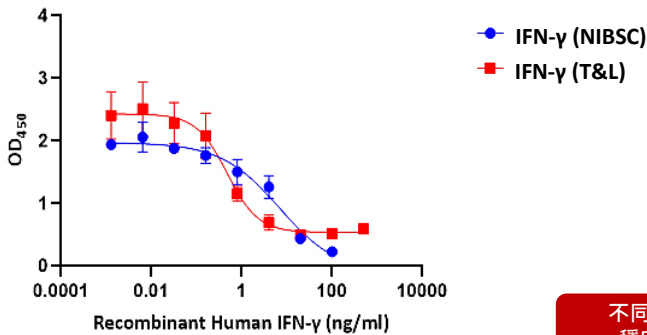
*GMP等級 IL-7重組蛋白之專一活性為 >1×10⁷ IU/mg。
(NIBSC Code: 90/530)

使用人類重組蛋白IL-15刺激CTLL-2增生

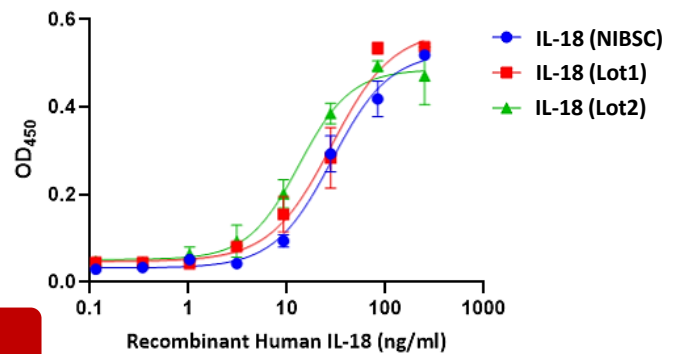


*GMP等級 IL-15重組蛋白之專一活性為 >1×10⁷ IU/mg。
(NIBSC Code: 95/554)

使用人類重組蛋白IFN-γ 抑制HT-29增生

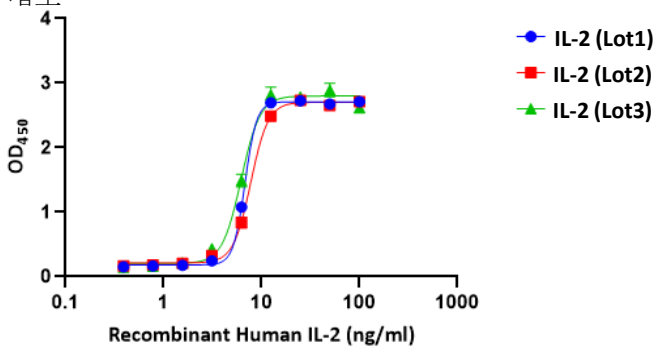


使用人類重組蛋白IL-18刺激KG-1產生IFN-γ

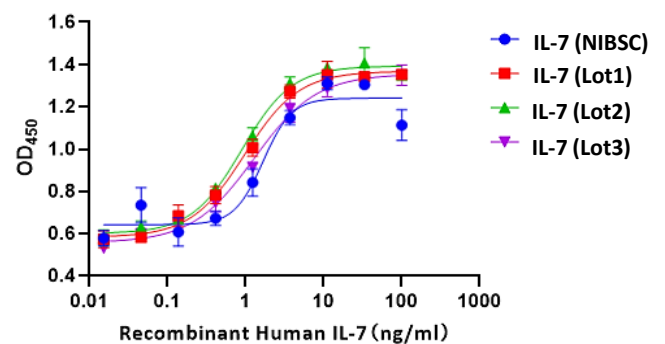


不同批次間 穩定性高

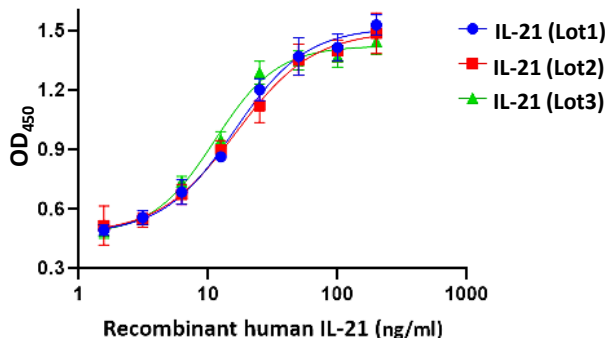
使用人類重組蛋白IL-2刺激CTLL-2 (mouse cytotoxic T cells) 增生



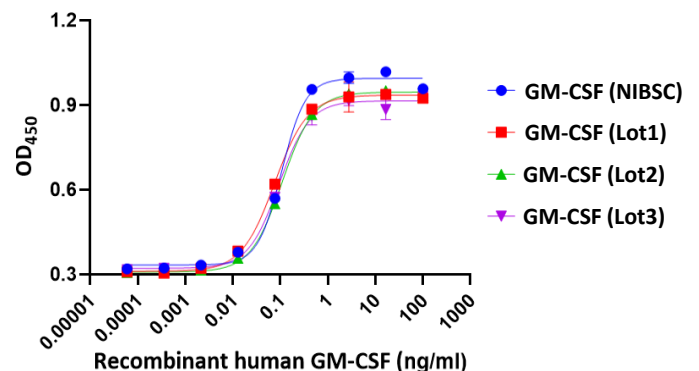
使用人類重組蛋白IL-7刺激PBMC增生



使用人類重組蛋白IL-21刺激NK-92產生IFN-γ



使用人類重組蛋白GM-CSF刺激TF-1增生



** NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control)是英國國家生物標準品檢定所，是世界衛生組織 (WHO) 的一個國際標準品供應中心實驗室，用於確保生物製品效力的複雜測定法需要使用生物活性標準。

CAR-T 細胞治療

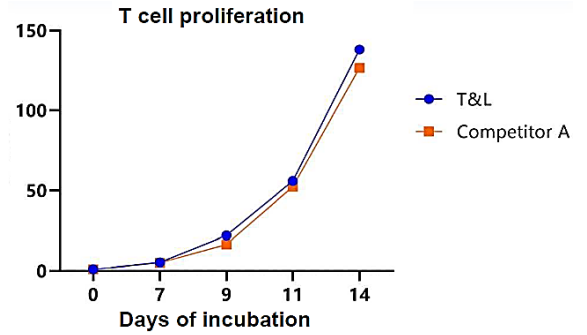
■ T cell Activation

a. **單株抗體**：使用抗CD3 及 抗CD28之單株抗體，塗覆(coating) 於細胞培養皿 或 細胞培養袋

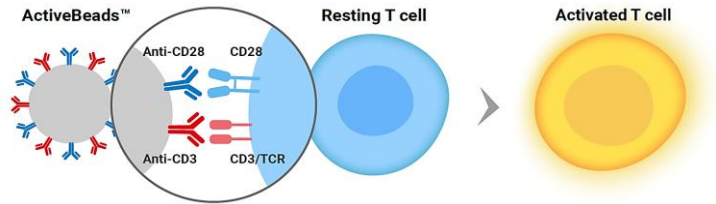
抗體名稱	RUO貨號	GMP貨號
Anti-CD3 mAb	NBP2-25186 (OKT-3), NBP1-97446 (TR66), NBP3-14571 (B-B11)	GMP-TL101 (500µg) DMF No: 038125
Anti-CD28 mAb	NBP3-28252	GMP-TL102 (500µg) DMF No: 038820

T細胞擴增效果
與他牌之OKT3相當

□ 使用Anti-CD3 mAb 活化T細胞

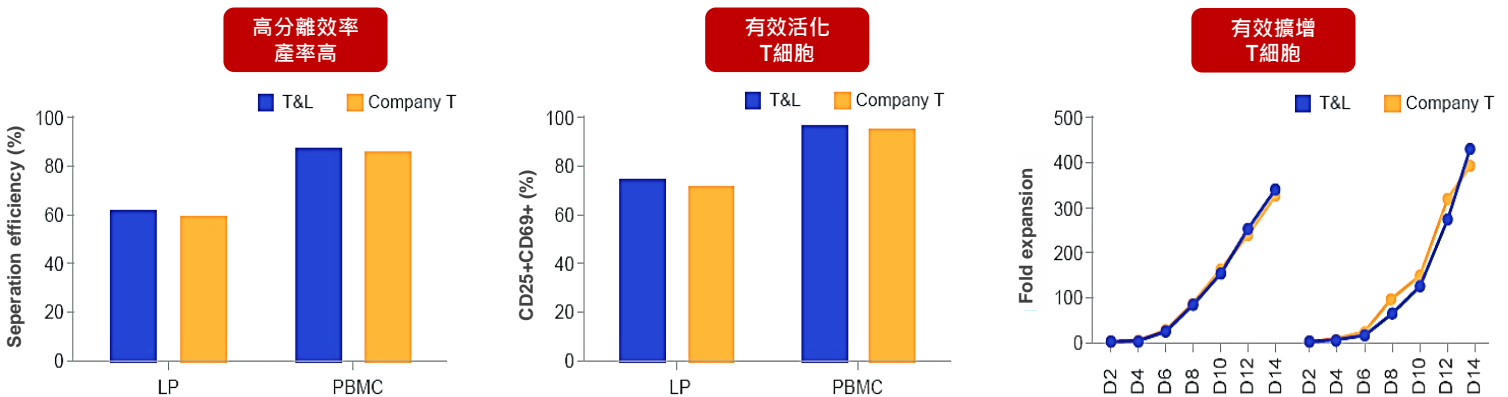


b. **磁珠**：使用與 抗CD3及 抗CD28 單株抗體偶聯(conjugate)之磁珠，模擬抗原呈現細胞 (APC)，達到更好之活化效果

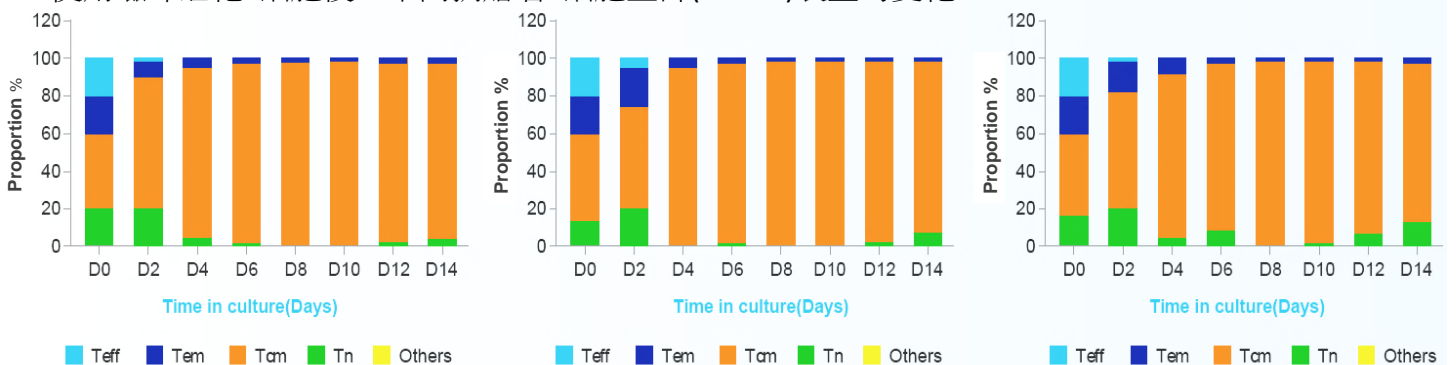


品名	活化能力	特性	等級
Human CD3/CD28 ActiveBeads (#U0576, 1mL)	≤ 1x10 ⁸ 富集之T 細胞 或 ≤ 2x10 ⁸ PBMCs (4 x 10 ⁸ 磁珠/mL)	<ul style="list-style-type: none"> ● 可達到高效率的擴增T細胞 ● 使用磁珠，無其他汙染物 ● 維持已活化T細胞於類活體內功能 ● 活化且擴增T細胞3天到數週之久 ● 不需要feeder cells即可擴增T細胞 	RUO
ActSep® CD3/CD28 Separation & Activation Magnetic Beads (#GMP-TL603, 1mL / 5mL)	(2 x 10 ⁸ 磁珠/mL)	<ul style="list-style-type: none"> ● 為4.5µm超順磁性微珠，模擬細胞大小 ● 可高效率的分離或活化/擴增細胞，且移除磁珠容易，操作簡單 ● 低內毒素，高穩定性、高安全性 	GMP DMF No : 038124

□ 使用ActSep® CD3/CD28磁珠活化T細胞 *使用單採血(LP) 或 PBMC，T細胞：磁珠=1：1 *



□ 使用磁珠活化T細胞後，不同捐贈者T細胞亞群(subset)表型的變化



*研究發現在T細胞輸入療法中，分化較少之T細胞亞群，與較佳之臨床結果有關。因分化較少之T細胞被認為有繁殖潛能，可長期存在。

ActSep® CD3/CD28磁珠可應用之平台



MARS® Bar platform
(Applied Cells)



CliniMACS Prodigy®
(Miltenyi)



Cocoon® Platform
(Lonza)



CTS™ DynaCollect™

T cell Expansion

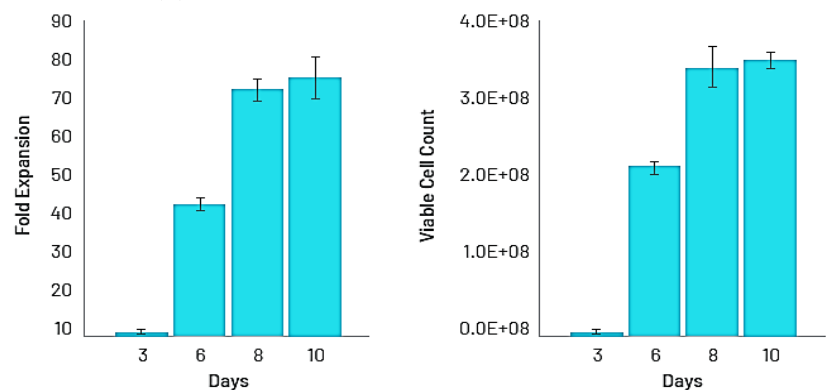
使用細胞激素刺激

蛋白名稱	RUO貨號	GMP貨號
IL-2	NBP2-35054	GMP-TL906 DMF No: 038126
IL-4	NBP2-34896	Coming soon...
IL-7	NBP2-34902	GMP-TL506 DMF No: 038127
IL-15	NBP2-35020	GMP-TL202 DMF No: 039117
IL-21	NBP2-35057	GMP-TL509
GM-CSF	NBP2-34893	GMP-TL302

T細胞培養基

品名	特性	等級
Human T Cell Expansion Media, Xeno-Free (500mL)	<ul style="list-style-type: none"> 可在無血清及異種來源條件下，快速擴增T細胞 與多種T細胞活化的方法相容 可從PBMC或純化之 CD3+ PBMCs擴增T細胞 	RUO
Serum-Free Human T Cell Base Media (250 mL)	<ul style="list-style-type: none"> 用於擴增T細胞，效果比RPMI+10%FBS好 為化學成分限定之培養基，可降低實驗的變異性 可用於多種實驗，如mixed lymphocyte reactions (MLR)、擴增抗原專一或非專一性之T細胞、在加藥 (如PMA或ConA) 的存在下，增殖周邊血液淋巴球細胞 	RUO
Human Treg Cell Differentiation Kit	<ul style="list-style-type: none"> 含有高品質之生物活性蛋白 可產出大量富集之FoxP3+ CD25+ Treg細胞群 提供由CD4+ T誘導成Treg細胞之最佳試劑 使用已證實且直覺式的流程，不需要特殊的儀器設備 	RUO

使用T Cell Expansion Medium及IL-7, IL-15再加上活化之kit共同培養CD3+T細胞



T細胞活化分泌之細胞激素

目標蛋白	Valukine ELISA Kit 貨號	ELISA Kit 貨號
Granzyme B	VAL142	-
IFN-γ	VAL104C	NBP1-91174
IL-2	VAL110	NBP1-89875
IL-8/CXCL8	VAL103	NBP1-83743
Perforin	-	NBP3-00418
TNF-α	VAL105G	NBP1-91170 NBP1-83741

- 確認T細胞狀態，避免過度活化T細胞造成T細胞耗竭 (Exhaustion)。

作用	蛋白標記
T Cell Activation	HLA-DR, CD38, CD69, CD25/IL-2Rα, Granzyme B, IFN-γ, IL-2, Perforin, TNF-α
T Cell Exhaustion	CTLA-4, PD-1, LAG-3, TIM-3, TIGIT, 2B4/CD244/SLAMF4, KLRG1, CD57, CD160

□ 鑑定T細胞耗竭之標誌

品名	貨號	偵測目標蛋白 (抗體)
T Cell Exhaustion Marker Antibody Pack (Flow)	NBP3-12864	Human PD-1 Antibody (25 ug) Rabbit IgG PE-conjugated Antibody (100 Tests) Human CTLA-4 Antibody (25 ug) Mouse F(ab)2 IgG (H+L) PE-conjugated Antibody (100 Tests) Human TIGIT Antibody (25 ug) Rat F(ab)2 IgG (H+L) PE-conjugated Antibody (100 Tests) Human TIM-3 Antibody (25 ug) Human VISTA/B7-H5/PD-1H Antibody(25 ug) Human LAG-3 Antibody (25 ug)
T Cell Exhaustion Marker Antibody Pack (Flow-Directly Conjugated)	NBP3-12863	Human PD-1 PE Antibody (0.1ml) Human CTLA-4 APC Antibody (0.1ml) Human TIGIT APC Antibody (100 Tests) Human TIM-3 APC Antibody (0.1ml) Human VISTA/B7-H5/PD-1H APC Antibody (0.1ml) Human LAG-3 APC Antibody (0.1ml)

References :

ActSep® CD3/CD28 magnetic beads

1. F Lv, et al. Self-reinforcing nano-spearhead drives the efficacy of CAR-T cells against progressive triple negative breast cancer. *Materials Today*. 2024 Jul;76: 9-27
2. Ma PQ, et al. Universal DNA-based sensing toolbox for programming cell functions. *J Am Chem Soc*. 2023 Dec 27;145(51): 28224-28232.
3. Ma PQ, et al. Nano-Biohybrid DNA Engager That Reprograms the T-Cell Receptor. *J Am Chem Soc*. 2022 Dec 14;144(49):22458-22469.

Anti-human CD3 Ab 及 Anti-human CD28 Ab

1. Zhang Q, et al. B7-H3 targeted CAR-T cells show highly efficient anti-tumor function against osteosarcoma both in vitro and in vivo. *BMC Cancer*. 2022 Nov 2;22(1):1124.
2. Mei H, et al. A bispecific CAR-T cell therapy targeting BCMA and CD38 in relapsed or refractory multiple myeloma. *J Hematol Oncol*. 2021 Oct 9;14(1):161.
3. Wang L, et al. Basing on uPAR-binding fragment to design chimeric antigen receptors triggers antitumor efficacy against uPAR expressing ovarian cancer cells. *Biomed. Pharmacother*. 2019;117:109173.

Recombinant human IL-2

1. Zou Q, et al. Photo-metallo-immunotherapy: Fabricating Chromium-Based Nanocomposites to Enhance CAR-T Cell Infiltration and Cytotoxicity against Solid Tumors. *Adv Mater*. 2024 Jun 20:e2407425.
2. Zhang X, et al. A CAR-T response prediction model for r/r B-NHL patients based on a T cell subset nomogram. *Cancer Immunol Immunother*. 2024 Jan 27;73(2):33.
3. Ma PQ, et al. Nano-Biohybrid DNA Engager That Reprograms the T-Cell Receptor. *J Am Chem Soc*. 2022 Dec 14;144(49):22458-22469.
4. Tang Y, et al. High efficacy and safety of CD38 and BCMA bispecific CAR-T in relapsed or refractory multiple myeloma. *J Exp Clin Cancer Res*. 2022 Jan 3;41(1):2.
5. Yang L, et al. Generation of TIM3 inhibitory single-domain antibodies to boost the antitumor activity of chimeric antigen receptor T cells. *Oncol Lett*. 2021 Jul;22(1):542. (GMP等級IL-2)

GMP等級之重組蛋白及抗體 : CD3 mAb (GMP-TL101), CD28 mAb (GMP-TL102), IL-7 (GMP-TL506), IL-15 (GMP-TL202), and IL-21 (GMP-TL509)

Tang L, et al. Dominant negative TGFβ receptor II and truncated TIM3 enhance the antitumor efficacy of CAR-T-cell therapy in prostate cancer. *Int Immunopharmacol*. 2023 Nov;124(Pt A):110807.

Human Treg Cell Differentiation Kit

1. Tsumuraya H, et al. Tumor Infiltrating Effector Regulatory T Cells Express VEGF Receptor 2 in Patients With Colorectal Cancer. *Anticancer Res*. 2024 Jul;44(7):2933-2941.
2. Zhang H, et al. Targeting PARP11 to avert immunosuppression and improve CAR T therapy in solid tumors. *Nat Cancer*. 2022 Jul;3(7):808-820.

Valukine ELISA kit - IL-2, IFN-γ及TNF-α

Zhang Z, et al. Optimized DNA electroporation for primary human T cell engineering. *BMC Biotechnol*. 2018 Jan 30;18(1):4.

ELISA kit

1. IL-2, TNFα及IFNγ ELISA kit

Wang Y, et al. Characteristics of premanufacture CD8+ T cells determine CAR-T efficacy in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Signal Transduct Target Ther*. 2023 Oct 25;8(1):409.

2. IFN-γ及TNF-α ELISA kit

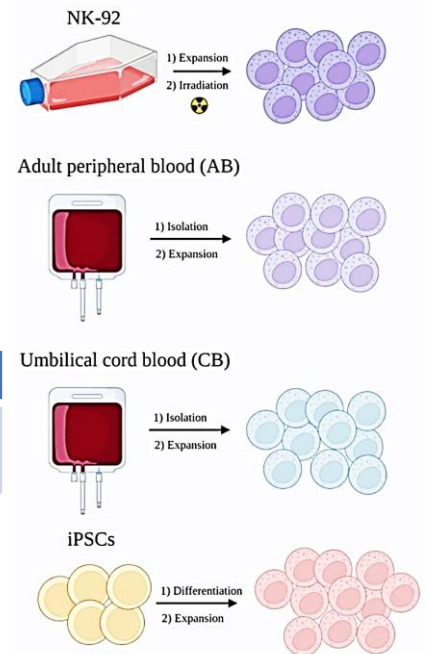
Mao L, et al. Development of Engineered CAR T Cells Targeting Tumor-Associated Glycoforms of MUC1 for the Treatment of Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *J Immunother*. 2023 Apr 1;46(3):89-95.

3. IL-6 ELISA kit

Zhang H, et al. Characteristics of anti-CLL1 based CAR-T therapy for children with relapsed or refractory acute myeloid leukemia: the multi-center efficacy and safety interim analysis. *Leukemia*. 2022 Nov;36(11):2596-2604.

CAR-NK 細胞治療

NK Cell Source



■ NK cell Activation & Expansion

□ NK細胞株來源

原始細胞株	貨號
NK-92 cell line	ACC 488 (from DSMZ)

a. feeder-cell-based system

與人工抗原呈現細胞 (aAPC) (如: 改造之K-562細胞) 共同培養

原始細胞株	貨號
K-562 cell line	JCRB0019 (from JCRB), ACC 10 (from DSMZ)

b. feeder-free system

□ 使用單株抗體刺激

抗體名稱	RUO貨號	GMP貨號
anti-NKp46 mAb	NBP3-14597	-
anti-CD3 mAb	NBP2-25186 (OKT-3), NBP1-97446 (TR66), NBP3-14571 (B-B11)	GMP-TL101 (500µg) DMF No: 038125
anti-CD52 mAb	-	GMP-TL112 (100µg)

□ 結合細胞激素 (Cytokine) 刺激

蛋白名稱	RUO貨號	GMP貨號
IL-2	NBP2-35054	GMP-TL906
IL-12	-	GMP-TL508
IL-15	NBP2-35020	GMP-TL202
IL-18	-	GMP-TL902
IL-21	NBP2-35057	GMP-TL509

□ NK細胞 (擴增) 培養基 / 套組

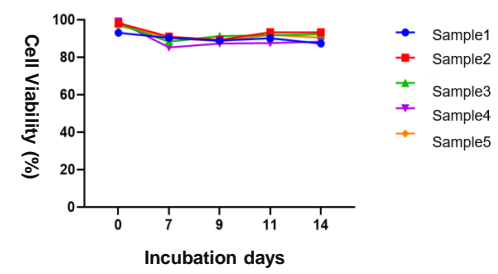
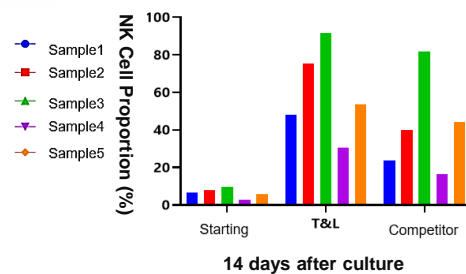
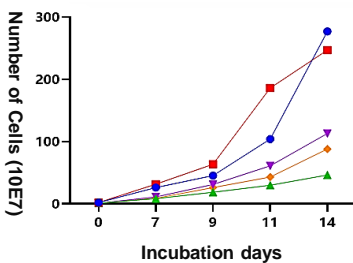
用途	品名	特性	等級
Expansion Media	Human NK Cell Expansion Media, Animal Component-Free (1L)	<ul style="list-style-type: none"> ● 可支援無餵養細胞(feeder cell)及無血清下擴增NK細胞 ● 不含酚紅(phenol red)之配方 ● 無動物成份來源, 保證病人之安全性 ● 可從PBMCs或經純化去除CD3+之PBMCs來擴增細胞 	RUO
	Human NK Cell Expansion Media, Xeno-Free (500mL)	<ul style="list-style-type: none"> ● 可在無血清及無異種來源快速擴增NK細胞 ● 與多種活化NK細胞方法相容 ● 可從PBMCs或經純化去除CD3+之PBMCs來擴增細胞 	RUO
Expansion Kit	Human NK Cell Expansion Kit	<ul style="list-style-type: none"> ● 包含高品質具生物活性之細胞激素及抗體 ● 提供誘導CD3-CD56+ NK細胞擴增需要之最佳化試劑 ● 可使用PBMCs作為啟始之細胞群 ● 利用kit擴增之NK細胞具有毒殺性 ● 不需要特殊的儀器設備 	RUO
Cell Culture Kit	AMMS® NK Cell Culture Kit 2.0 (AMMS®NK Cell Culture Reagent Kit 及AMMS®NK Serum-Free Medium x2)	<ul style="list-style-type: none"> ● 不含抗生素、血清或異種動物來源 ● 含專利成分之細胞因子, 不需餵養細胞(feeder cell) ● 可使用PBMC或UBMC活化及擴增NK細胞 ● 可擴增50-200倍, CD3-CD56+可佔60-90% 	GMP DMF No: 035588

□ 使用AMMS® NK Cell Culture Kit 2.0擴增NK細胞

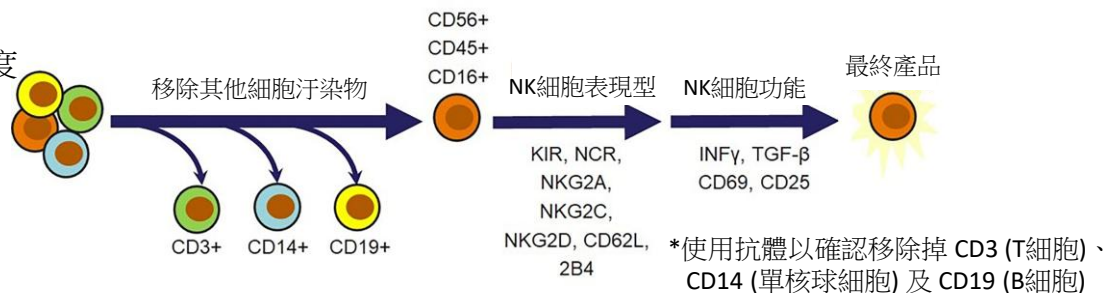
細胞可擴增 50-200倍

NK (CD3-56+) 約佔60-90%

NK細胞 存活率高



● 確認NK細胞之純度



□ 擴增NK細胞之表現型

Flow Cytometry Kit	NK 細胞之標誌
Human NK Cell Phenotyping Flow Cytometry Kit	CD3, NCAM1/CD56, NKG2D/CD314, NKp30/NCR3, NKp46/NCR1, Fc Gamma R III/CD16

□ 分析NK細胞分泌之細胞激素

目標蛋白	Valukine ELISA Kit 貨號	ELISA Kit 貨號
IFN- γ	VAL104C	NBP1-91174
TNF- α	VAL105G	NBP1-91170 NBP1-83741
TNF- β	VAL185	NBP1-83730
GM-CSF	VAL124	NBP1-91277
IL-10	VAL112	NBP1-89871
IL-13	VAL126	NBP1-91176
Perforin	-	NBP3-00418
Granzyme B	VAL142	-

● NK細胞之功能與標誌

Differentiation marker	Activating receptors	Inhibitory receptors
CD62L/L-Selectin	NKG2C/CD159c	NKG2A/CD159a
CD45	NKG2D/CD314	KIRs family
HLA-DR	NKG2E/KLRC3	KIR/CD158
CD57	NCRs family	KIR2DL1/CD158a
Cytotoxicity marker	NKp30/NCR3	KIR2DL3/CD158b2
CD16/Fc γ R III	NKp44/NCR2	
CD25	NKp46/NCR1	
Activation marker	CD244/2B4	
CD69	CD226/DNAM-1	
CD107a/LAMP-1		

References :

Anti-CD3 antibody

Wang F, et al. TIGIT immune checkpoint blockade enhances immunity of human peripheral blood NK cells against castration-resistant prostate cancer. *Cancer Lett.* 2023 Aug 1;568:216300.

Anti-CD3 antibody, IFN- γ 及 IL-1 α

Wang F, et al. Combined treatment with anti-PSMA CAR NK-92 cell and anti-PD-L1 monoclonal antibody enhances the antitumor efficacy against castration-resistant prostate cancer. *Clin Transl Med.* 2022 Jun;12(6):e901.

Recombinant human IFN- γ , anti-CD3, PD-L1 monoclonal antibody

Chen J, et al. Programmed cell death protein-1/programmed death-ligand 1 blockade enhances the antitumor efficacy of adoptive cell therapy against non-small cell lung cancer. *J Thorac Dis.* 2018 Dec;10(12):6711-6721.

Recombinant human IL-15

Hong G, et al. Progression-Free Survival of a Patient with Advanced Hepatocellular Carcinoma Treated with Adoptive Cell Therapy Using Natural Killer Cells: A Case Report. *Onco Targets Ther.* 2022 Mar 15;15:255-266.

Human NK Cell Expansion media

- Lauener MP, et al. Expansion and characterization of immune suppressive CD56(bright)Perforin(-) regulatory-like natural killer cells in chronic graft-versus-host disease. *Cytotherapy.* 2024 Jul 25:S1465-3249(24)00803-X.
- Lamothe RC, et al. Novel CRISPR-Associated Gene-Editing Systems Discovered in Metagenomic Samples Enable Efficient and Specific Genome Engineering. *CRISPR J.* 2023 Jun;6(3):243-260. doi: 10.1089/crispr.2022.0089.
- Cui L, et al. Optimized cytotoxicity assay for co-suspended effector and target cells. *J Immunol Methods.* 2021 Oct;497:113100.

AMMS NK cell culture kit 2.0

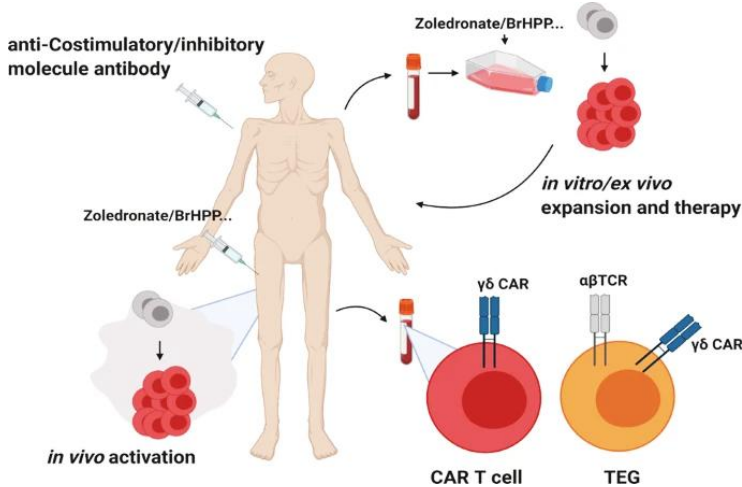
- Huang L, et al. Acute toxicities of intravenous, intraperitoneal, or intratumoral injection of natural killer cells in human pancreatic adenocarcinoma-bearing mice: Randomized study. *Int Immunopharmacol.* 2023 Nov;124(Pt A):110881.
- Zhang Y, et al. iPSC-derived NK cells with site-specific integration of CAR19 and IL24 at the multi-copy rDNA locus enhanced antitumor activity and proliferation. *MedComm (2020).* 2024 May 9;5(5):e553.

AMMS basic medium

Li J, et al. Improved Cell Properties of Human Dental Pulp Stem Cells (hDPSCs) Isolated and Expanded in a GMP Compliant and Xenogeneic Serum-free Medium. *In Vivo.* 2023 Nov-Dec;37(6):2564-2576.

TCR $\gamma\delta$ -T (Gamma-Delta T, GDT) 細胞治療

■ $\gamma\delta$ -T cell Activation & Expansion



Exp Mol Med. 2021 Mar; 53(3):318-327.

使用phosphoantigens (pAgs) 或 nitrogen-bisphosphonates (n-BPs)，於活體內 (in vivo) 或活體外 (ex vivo) 直接或間接活化細胞

□ 活化 $\gamma\delta$ -T細胞之藥品

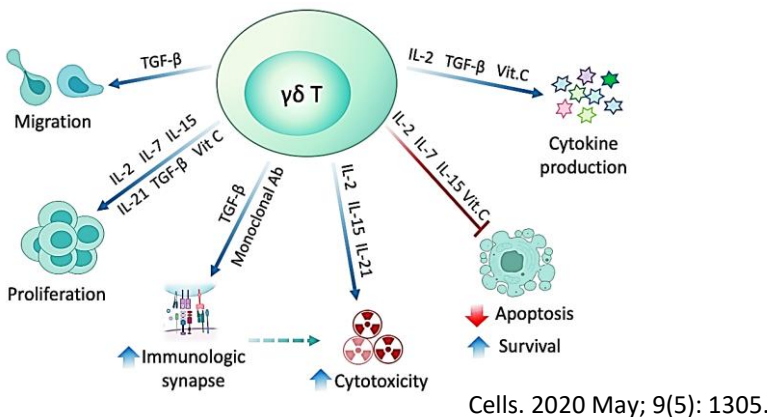
分類	藥品名稱	貨號
pAgs	HMBPP (E)-4-Hydroxy-3-methyl-but-2-enyl diphosphate)	HY-134891
	PAM (Pamidronic acid, pamidronate)	HY-B0012
n-BPs	ZOL (Zoledronate, Zoledronic Acid)	HY-13777
	L-Ascorbic acid	HY-B0166
其他	ConA (Concanavalin A)	HY-P2149
	PHA (Phytohemagglutinin)	HY-N7038
	PMA (Phorbol 12-myristate 13-acetate)	HY-18739

□ 結合抗體活化 $\gamma\delta$ -T 細胞

抗體名稱	RUO貨號	GMP貨號
Anti-CD3 Ab	NBP2-25186 (OKT-3), NBP1-97446 (TR66), NBP3-14571 (B-B11)	GMP-TL101
Anti-CD28 Ab	NBP3-28252	GMP-TL102 DMF No: 038820
Anti-CD20 Ab	NBP3-28158 (Rituximab) NBP3-28159 (Obinutuzumab)	GMP-TL502
Anti-CD38 Ab	NBP3-28193 (Daratumumab)	-
anti-BTN3A Ab	NBP3-28456 (ICT01)	-

□ 結合細胞激素刺激，以活化或極化 (polarization) $\gamma\delta$ -T細胞

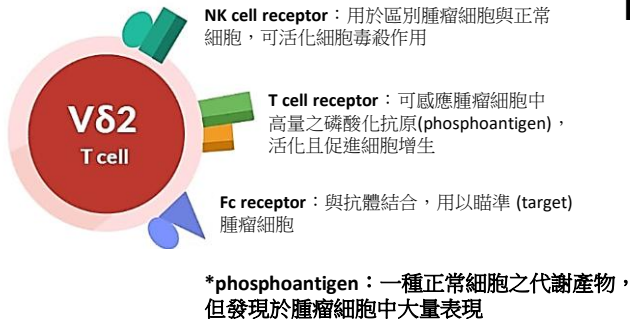
重組蛋白	RUO貨號	GMP貨號
IL-1 β	NBP2-35895 TL-513-0100	-
IL-2	NBP2-35054	GMP-TL906
IL-4	NBP2-34896	Coming soon...
IL-6	NBP2-34901	GMP-TL512
IL-7	NBP2-34902	GMP-TL506 (DMF No: 038126)
IL-15	NBP2-35020	GMP-TL202 (DMF No: 038127)
IL-21	NBP2-35057	GMP-TL509 (DMF No: 039117)
TGF- β	-	Coming soon...



Cells. 2020 May; 9(5): 1305.

□ T細胞培養基

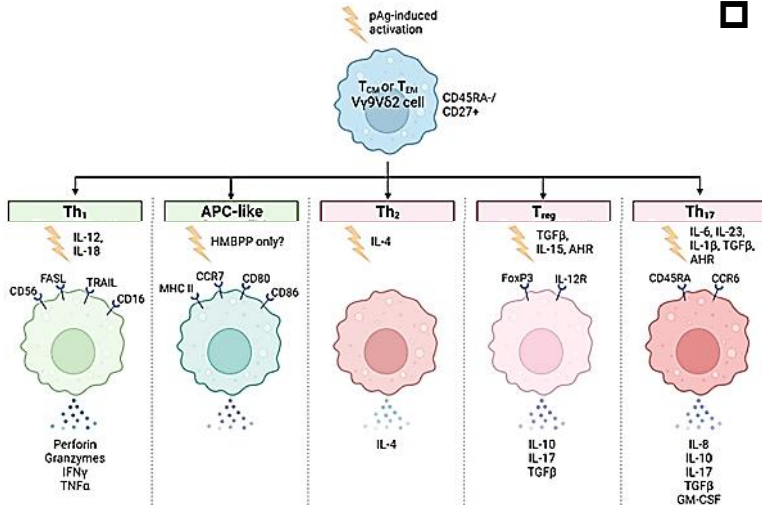
品名	特性	等級
Human T Cell Expansion Media, Xeno-Free (500mL)	<ul style="list-style-type: none"> 可在無血清及異種來源條件下，快速擴增T細胞 與多種T細胞活化的方法相容 可從PBMC或純化之 CD3+ PBMCs擴增T細胞 	RUO
Serum-Free Human T Cell Base Media (250 mL)	<ul style="list-style-type: none"> 用於擴增T細胞，效果比RPMI+10%FBS好 為化學成分限定之培養基，可降低實驗的變異性 可用於多種實驗，如mixed lymphocyte reactions (MLR)、擴增抗原專一或非專一性之T細胞、在加藥時 (如PMA 或 ConA) 增殖周邊血液淋巴球細胞 	RUO



分析 $\gamma\delta$ -T細胞之表型

$\gamma\delta$ -T Cell marker	
CD4 ⁻	Fc Gamma R III (CD16)
CD8 ⁻	DNAM-1 (CD226)
TCRV $\gamma\delta$ ⁺	NKG2D
FasL	NCRs (NKp30, NKp44, NKp46)
TRAIL	

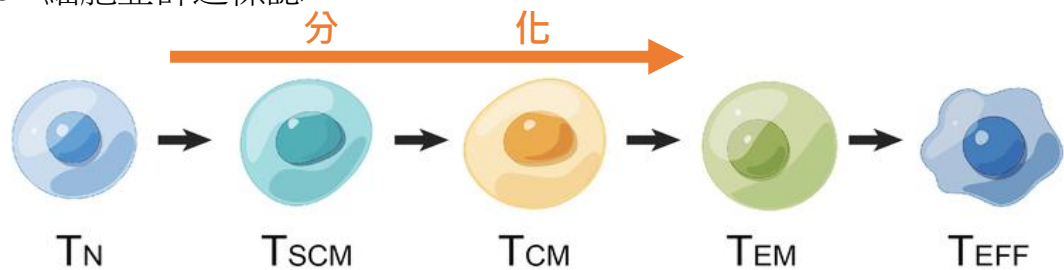
調節性 $\gamma\delta$ -T細胞 (V γ 9V δ 2) 分泌之細胞激素



Clin Transl Immunology. 2024; 13(2): e1492.

分化之細胞群	目標蛋白	Valukine ELISA Kit 貨號	ELISA Kit 貨號
Th1	Perforin	-	NBP3-00418
	Granzyme B	VAL142	-
	IFN- γ	VAL104C	NBP1-91174
	TNF- α	VAL105G	NBP1-91170 NBP1-83741
Th2	IL-4	VAL123	NBP1-91171
Th17	IL-8	VAL103	NBP1-83743
	GM-CSF	VAL124	NBP1-91277
Th17 或 T reg	IL-10	VAL112	NBP1-89871
	IL-17	VAL129	NBP1-82423
	TGF- β 1	VAL127	NBP1-91252

● 記憶性 $\gamma\delta$ -T細胞亞群之標誌



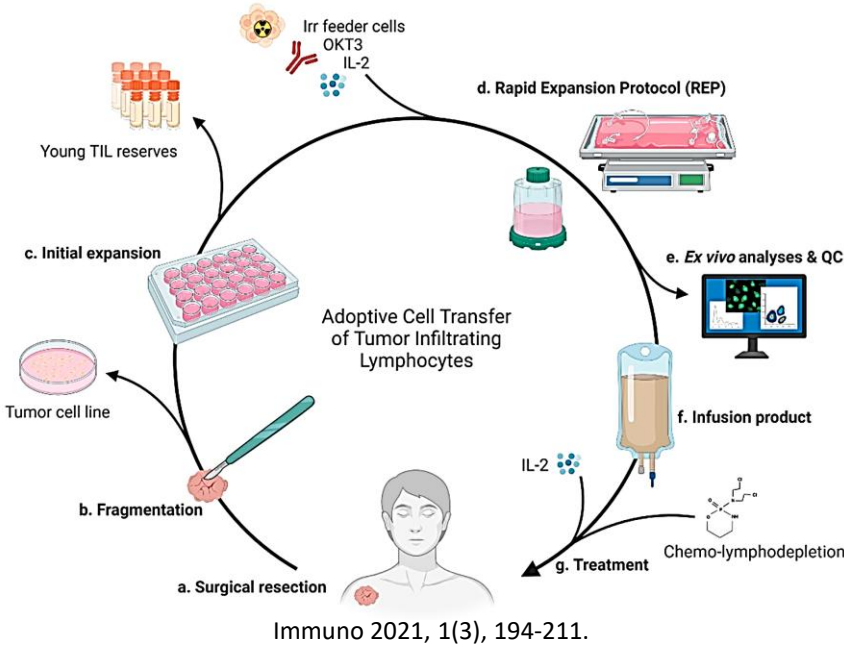
細胞種類/ 表面標誌	初始T細胞 (Native T cells, TN)	類幹細胞 記憶性T細胞 (Stem-like memory T cells, Tsm)	中央記憶性T細胞 (Central memory T cells, TCM)	效應記憶性T細胞 (Effector memory T cells, TEM)	最終效應T細胞 (Terminal effector T cells, TEFF)
CCR7	+	+	+	-	-
CD27	+	+	+	+/-	-
CD45RA	+	+	-	-	+
CD45RO	-	+	+	+	-
CD62L	+	+	+	-	-
CD95	-	+	+	+	+

**當作用型T細胞攻擊完癌細胞後，會消耗殆盡功成身退；而記憶型T細胞具有專一性及記憶性，則會留在身體內，記住腫瘤特徵，等到腫瘤再次出現時即能快速殲滅。

**若有需要相關抗體，歡迎跟我們聯絡...

TIL (Tumor Infiltrating Lymphocyte) 細胞治療

TIL cell Activation & Expansion



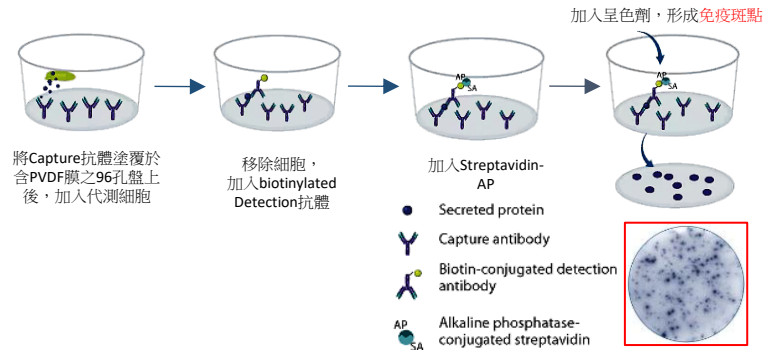
腫瘤浸潤之免疫細胞，包括 先天性免疫細胞：如巨噬細胞、肥大細胞 (mast cells)、自然殺手細胞 (NK cells)、樹突狀細胞(DCs) 及後天免疫細胞 (T cells、B cells) 等等。

活化TIL之方式

Pre-REP	Unselected/Young TILs	
IL-2	IFN- γ ELISA or ELISPOT	
REP (rapid expansion protocol)		
IL-2 Anti-CD3 Ab \pm Anti-CD28 Ab	Anti-4-1BB Ab, Anti-CTLA-4 Ab	IL-15 IL-21
篩選TIL之表面標誌		
CD8, CD39, CE103, 4-1BB (CD137), PD-1/CD279		

● 利用ELISPOT，偵測單顆細胞之IFN- γ 表現

- ✓ 可偵測&定量單顆細胞分泌之細胞激素
- ✓ 靈敏度高，可檢測到1/100,000之細胞
- ✓ 不需額外體外擴增細胞
- ✓ 易於高通量 (high-throughput) 使用



□ 使用細胞激素及抗體刺激細胞

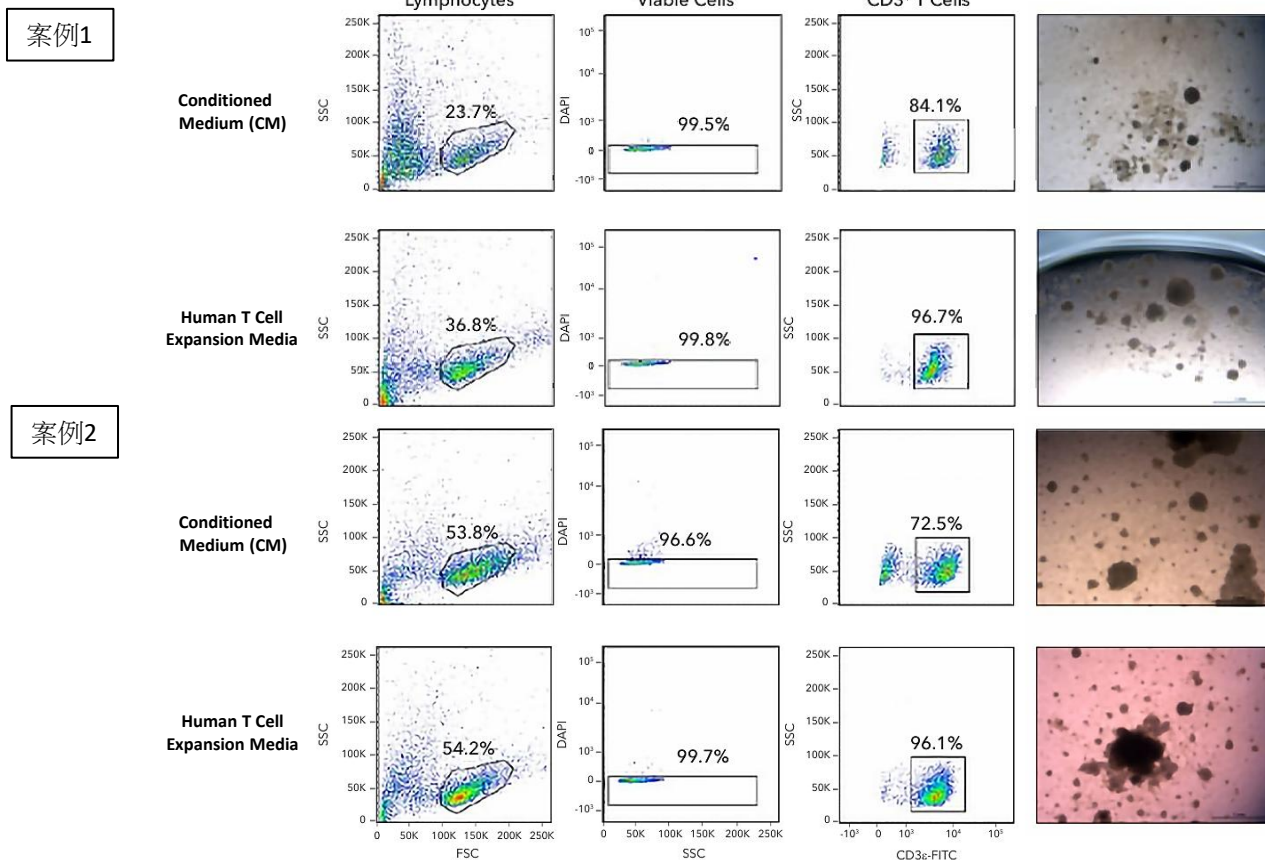
蛋白名稱	RUO貨號	GMP貨號
IL-2	NBP2-35054	GMP-TL906
IL-15	NBP2-35020	GMP-TL202 (DMF No: 038127)
IL-21	NBP2-35057	GMP-TL509 (DMF No: 039117)

抗體名稱	RUO貨號	GMP貨號
Anti-CD3 mAb	NBP2-25186 (OKT-3), NBP1-97446 (TR66), NBP3-14571 (B-B11)	GMP-TL101 DMF No: 038125
Anti-CD28 mAb	NBP3-28252	GMP-TL102 DMF No: 038820
Anti-4-1BB mAb	NBP3-09103 (4B4-1) NBP3-28248 (Urelumab) NBP3-28208 (Utomilumab)	-
Anti-CTLA-4 mAb	NBP3-28243 (Ipilimumab) NBP3-28727 (Tremelimumab) NBP3-28884 (Quavonlimab) NBP3-28728 (Zalifrelimab) NBP3-28726 (Nurulimab)	-

□ T細胞培養基

品名	特性	等級
Human T Cell Expansion Media, Xeno-Free (500mL)	<ul style="list-style-type: none"> ● 可在無血清及異種來源條件下，快速擴增T細胞 ● 與多種T細胞活化的方法相容 ● 可從PBMC或純化之 CD3+ PBMCs擴增T細胞 	RUO
Serum-Free Human T Cell Base Media (250 mL)	<ul style="list-style-type: none"> ● 用於擴增T細胞，效果比RPMI+10%FBS好 ● 為化學成分限定之培養基，可降低實驗的變異性 ● 可用於多種實驗，如混合淋巴球反應 (MLR)、擴增抗原專一或非專一性之T細胞、在加藥 (如PMA 或 ConA) 的存在下，增殖周邊血液淋巴球細胞 	RUO

□ 使用條件培養基及Human T Cell Expansion Media (於 IL-2存在下)，擴增TIL細胞之效果



□ 確認TIL細胞之表現型

Memory T Cell Markers	
CD3	CCR7
CD4	L-Selectin/CD62L
CD8	CD27/TNFSF7
CD45RA	CD28
CD45RO	Fas/TNFRSF6/CD95

● 檢查腫瘤細胞之殘留 (qPCR, IHC, flow, ISH)

(檢測) 腫瘤抗原
CEA, EpCAM, GPC-3, gp100, HER2, mesothelin (MSLN), MUC1, PSA, S100, TRP-2

□ 確認TIL細胞活化分泌之蛋白

目標蛋白	Valukine ELISA Kit 貨號	ELISA Kit 貨號
IFN- γ	VAL104C	NBP1-91174
TNF- α	VAL105G	NBP1-91170 NBP1-83741
IL-17	VAL129	NBP1-82423
Perforin	-	NBP3-00418
Granzyme A	-	NBP3-11790
Granzyme B	VAL142	-
TRAIL	-	NBP1-82418

References :

anti-CD28 antibody

Zhang C, et al. Autophagic flux restoration enhances the antitumor efficacy of tumor infiltrating lymphocytes. J Immunother Cancer. 2022 Oct;10(10):e004868.

IL-2 及 anti-human CD3 antibody (OKT3)

Yao T, et al. Expansion of tumor-infiltrating lymphocytes with substantial stem cell properties from vulvar cancer. Authorea. 2021 Sep13 (This article is a preprint. It may not have been peer reviewed.)

gp100 polyclonal antibody

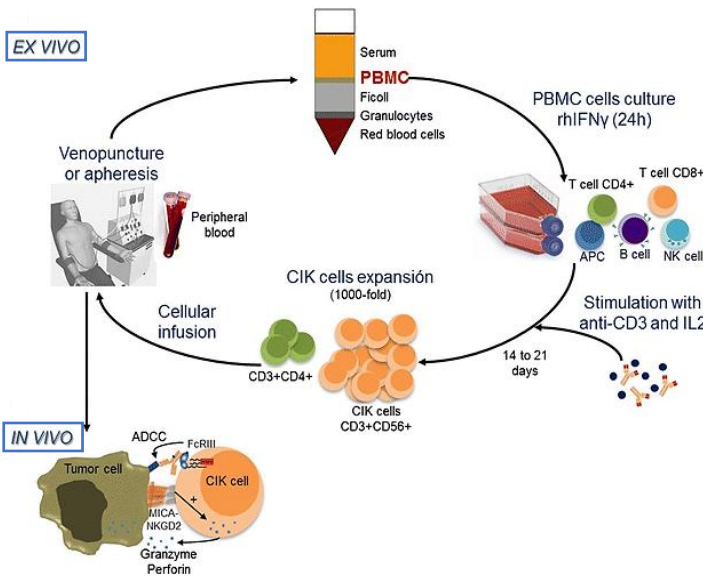
Landsberg, J, et al. Melanomas resist T-cell therapy through inflammation-induced reversible dedifferentiation. Nature. 2012 Oct 18;490(7420):412-6.

anti-GPC-3 antibody

Makkouk A, et al. Off-the-shelf V δ 1 gamma delta T cells engineered with glypican-3 (GPC-3)-specific chimeric antigen receptor (CAR) and soluble IL-15 display robust antitumor efficacy against hepatocellular carcinoma. J Immunother Cancer. 2021; 9(12): e003441.

CIK (Cytokine Induced Killer cell) 細胞治療

■ CIK cell Activation & Expansion



Target Oncol. 2017 Jun;12(3):289-299.

CIK為一群異質之細胞，依表型主要包含 CD3⁺CD56⁻ (T細胞), CD3⁺CD56⁺ (NKT細胞) 及 CD3⁻CD56⁺ (NK細胞)。

□ 刺激活化細胞

抗體及蛋白名稱	RUO貨號	GMP貨號
IFN- γ	NBP2-34992	GMP-TL105
IL-1 α	NBP2-35051, TL-109-0010	-
IL-2	NBP2-35054	GMP-TL906
Anti-CD3 mAb	NBP2-25186 (OKT-3), NBP1-97446 (TR66), NBP3-14571 (B-B11)	GMP-TL101

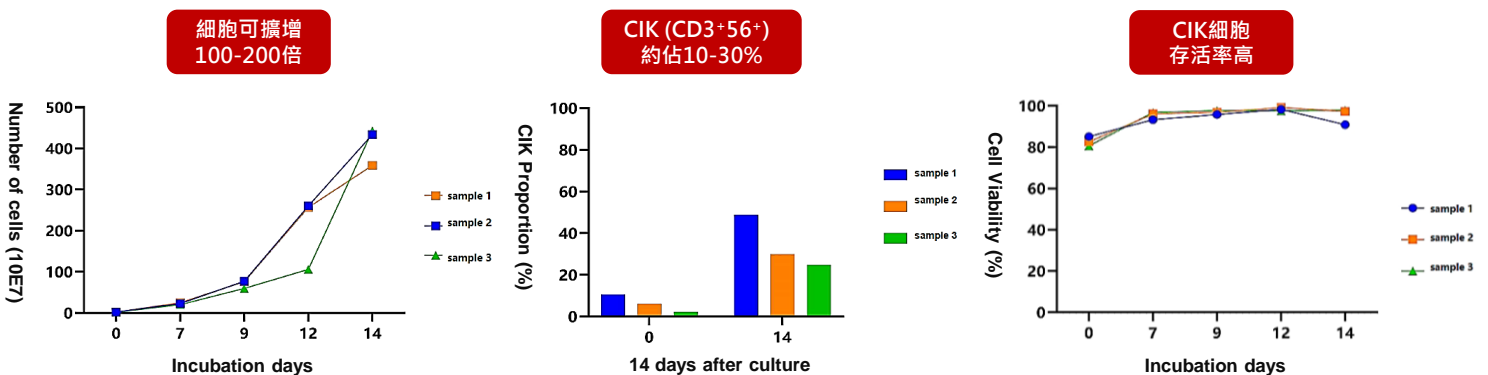
□ 結合其他細胞激素刺激

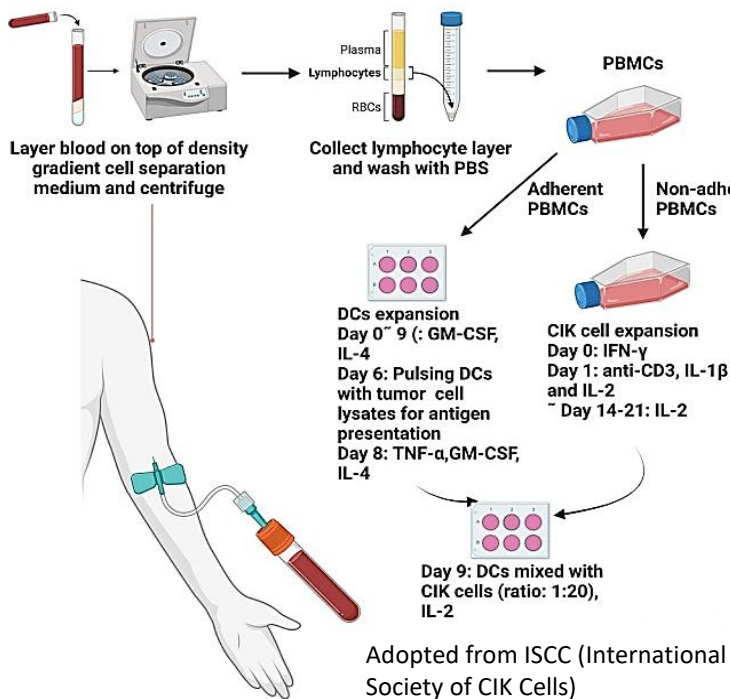
蛋白名稱	RUO貨號	GMP貨號
IL-6	NBP2-34901	GMP-TL512
IL-7	NBP2-34902	GMP-TL506, (DMF No: 038126)
IL-12	-	GMP-TL508
IL-15	NBP2-35020	GMP-TL202 (DMF No: 038127)
IL-21	NBP2-35057	GMP-TL509 (DMF No: 039117)

□ CIK細胞 (擴增) 培養基 / 套組

用途	品名	特性	等級
Expansion Media	Human NK Cell Expansion Media, Animal Component-Free (1L)	<ul style="list-style-type: none"> ● 可支援無餵養細胞(feeder cell)及無血清下擴增NK細胞 ● 不含酚紅(phenol red)之配方 ● 無動物成份來源，保證病人之安全性 ● 可從PBMCs或經純化去除CD3⁺之PBMCs來擴增細胞 	RUO
	Human NK Cell Expansion Media, Xeno-Free (500mL)	<ul style="list-style-type: none"> ● 可在無血清及無異種來源快速擴增NK細胞 ● 與多種活化NK細胞方法相容 ● 可從PBMCs或經純化去除CD3⁺之PBMCs來擴增細胞 	RUO
Cell Culture Kit	AMMS [®] CIK Cell Culture Kit	<ul style="list-style-type: none"> ● 包含擴增試劑及無血清培養基 (1000mL) ● 無血清及動物來源 ● 操作簡單，快速擴增細胞，可擴增100-200倍 ● 擴增之細胞表型穩定，CD3⁺ CD56⁺之細胞可達10-30% 	GMP

□ 使用AMMS[®] CIK Cell Culture Kit 2.0擴增CIK細胞





CIK結合DC疫苗

刺激單核球活化為MoDC	刺激成為成熟之DC	鑑定表面之標誌
GM-CSF, IL-4, TNF- α	自體腫瘤抗原	CD3, CD86, HLA-DR

CIK結合免疫檢查點抑制劑 (immune checkpoint inhibitors, ICI)

抗體名稱	RUO貨號及名稱
PD-1 Antibody	NBP3-28114 (Nivolumab), NBP3-28113 (Pembrolizumab)
PD-L1 Antibody	NBP3-28121 (Atezolizumab), NBP3-28128 (Durvalumab)
CTLA-4 Antibody	NBP3-28243 (Ipilimumab) NBP3-28727 (Tremelimumab) NBP3-28884 (Quavonlimab) NBP3-28728 (Zalifrelimab) NBP3-28726 (Nurulimab)

分析CIK細胞之表型

Cell marker	NK cell Marker
CD3	NKG2D
CD4	DNAM-1
CD8	NKp30
CD56	Naive/Memory subsets
CD25 (IL-2 receptor)	CD45RA
CD69	CD62L
CD127	Lymphoid homing marker
	CCR7

CIK細胞分泌之細胞激素

目標蛋白	Valukine ELISA Kit 貨號	ELISA Kit 貨號
Perforin	-	NBP3-00418
Granzyme B	VAL142	-
IFN- γ	VAL104C	NBP1-91174
TNF- α	VAL105G	NBP1-91170 NBP1-83741
IL-2	VAL110	NBP1-89875
IL-4	VAL123	NBP1-91171
IL-6	VAL187	NBP1-89869
IL-12	VAL115 (IL-12p70)	NBP1-91183 NBP3-11729
GM-CSF	VAL124	NBP1-91277

負向調節 (Negative regulatory) 之細胞激素

目標蛋白	Valukine ELISA Kit 貨號	ELISA Kit 貨號
IL-10	VAL112	NBP1-89871
TGF- β 1	VAL127	NBP1-91252

References :

anti-CD3 antibody

Chen A, et al. Oncolytic measles virus enhances antitumour responses of adoptive CD8+NKG2D+ cells in hepatocellular carcinoma treatment. Sci Rep. 2017 Jul 12;7(1):5170.

Recombinant human IFN- γ , anti-CD3及PD-L1 monoclonal antibody

Chen J, et al. Programmed cell death protein-1/programmed death-ligand 1 blockade enhances the antitumor efficacy of adoptive cell therapy against non-small cell lung cancer. J Thorac Dis. 2018 Dec;10(12):6711-6721.

IL-1 α , IL-2, IL-4, GM-CSF, IFN- γ , TNF- α , anti-CD3 antibody及anti-CD28 antibody

Wang Z, et al. Targeting prostate cancer stem-like cells by an immunotherapeutic platform based on immunogenic peptide-sensitized dendritic cells-cytokine-induced killer cells. Stem Cell Res Ther. 2020 Mar 17;11(1):123.

Human IL-2 Valukine ELISA kit

Yuan J, et al. Characterization of the subsets of human NKT-like cells and the expression of Th1/Th2 cytokines in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion. J Reprod Immunol. 2015 Aug;110:81-8.

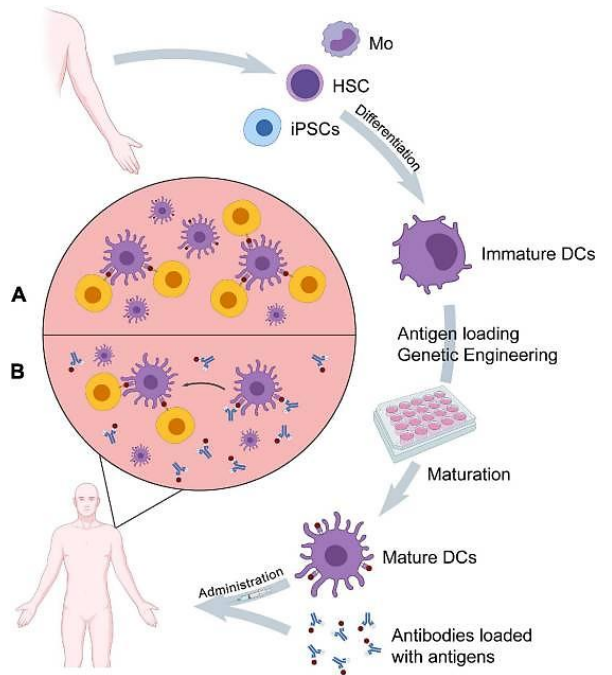
DC (Dendritic cell)細胞治療

■ DC cell Activation

□ 使用細胞激素或藥品分化DC

1. 將CD14⁺單核球 或 CD34⁺ HSCs分化為monocyte-derived dendritic cells (MoDCs)

細胞來源	重組蛋白	RUO貨號	GMP貨號
Monocyte	GM-CSF	NBP2-34893	GMP-TL302
	IL-4	NBP2-34896	Coming soon...
CD34 ⁺ HSCs	GM-CSF	NBP2-34893	GMP-TL302
	TNF- α	NBP2-35076, NBC1-18460	GMP-TL303
	Flt3L	NBP2-34868 NBP2-36439	-



Front. Cell Dev. Biol., 28 June 2021

2. 再將MoDCs分化為成熟之DC細胞

• 以腫瘤抗原 (TAA-loading) 結合細胞激素之混合物 (cocktail) 或其他藥品刺激

重組蛋白	RUO貨號	GMP貨號
IL-1 β	NBP2-35895	-
IL-6	NBP2-34901	GMP-TL512
IFN- γ	NBP2-34992	GMP-TL105
TNF- α	NBP2-35076, NBC1-18460	GMP-TL303

藥品名稱	貨號
CD40 Ligand/TNFSF5	NBP2-35244
LPS (from E. Coli)	NBP2-25295
Poly (I:C) (Polyinosinic-polycytidylic acid)	HY-107202

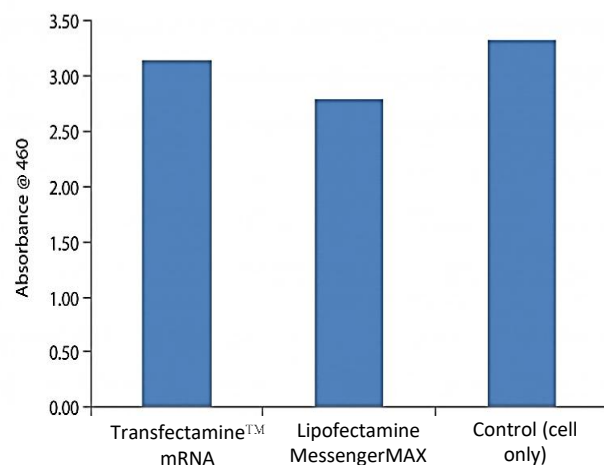
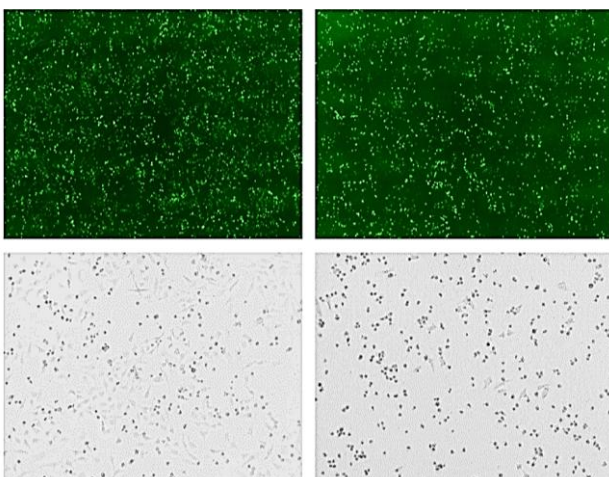
□ 使用mRNA轉殖DC細胞

用途	品名	特性	等級
Transfection Reagent	Transfectamine™ mRNA Transfection Reagent (0.5mL, 5mL)	<ul style="list-style-type: none"> ● 操作簡單，毒性低，細胞存活率高 ● 轉染效率高 ● 適用細胞範圍廣 (貼附型細胞株、懸浮細胞株，包括難轉染之細胞) 	RUO

□ 使用Transfectamine™ mRNA及Lipofectamine MessengerMax 轉染HeLa細胞之效率及存活率

□ 細胞轉染後之存活率 (使用WST-8 Assay, 與Lipofectamine MessengerMAX 比較)

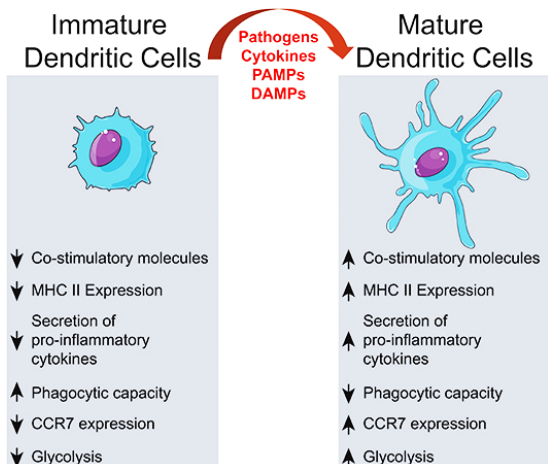
Transfectamine™ mRNA Lipofectamine MessengerMAX



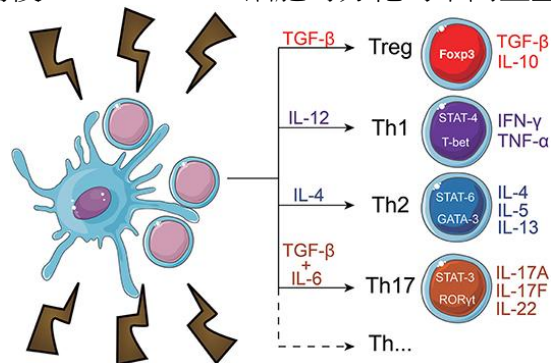
■ DC cell Expansion

□ DC細胞培養基

品名	特性	等級
Serum-Free Dendritic Cell Base Media (250mL)	<ul style="list-style-type: none"> ● 為化學成分確定之培養基 (chemical-defined media)，適合樹突狀細胞培養 ● 批次與批次之間穩定性高 ● 讓使用者可額外添加想使用之生長因子及細胞激素 (如IL-4、GM-CSF及TNF-α) ● 可將CD14⁺ 單核球分化成樹突狀細胞之最佳配方 	GMP
Human Monocyte-derived DC Differentiation Kit	<ul style="list-style-type: none"> ● 提供所有將CD14⁺單核球分化為樹突狀細胞之試劑，包括 無血清之基本培養基及 高品質具生物活性之細胞激素 (人類重組蛋白IL-4、GM-CSF及TNF-α) ● 使用已證實且直覺式的流程，不需要特殊的儀器設備 	RUO



● 與DC接觸後，naïve CD4⁺ T細胞可分化為不同亞型之細胞



Front Immunol. 2019 Jan 21;9:3176.

□ MoDC及成熟DC之表型分析

MoDC Cell marker	成熟DC Cell marker
CD11c	DC-SIGN/ CD209
CD11b	CD80
CD14	CD86
CD1a	CD83
CD209	CCR7
FcεRI	CD14 ⁻
HLA-DR	

□ MoDC及成熟DC分泌之細胞激素

功能	目標蛋白	Valukine ELISA Kit 貨號	ELISA Kit 貨號
成熟DC分泌之細胞激素	IL-12 p70	VAL115	NBP1-91183 NBP3-11729
	IL-10	VAL112	NBP1-89871
	IL-1β	VAL101	-
	IL-6	VAL187	NBP1-89869
	IL-23	VAL116	-
確認T細胞活化之細胞激素	IFN-γ	VAL104C	NBP1-91174
	TNF-α	VAL105G	NBP1-91170 NBP1-83741
	Perforin	-	NBP3-00418
	Granzyme A	-	NBP3-11790
	Granzyme B	VAL142	-

References :

ActSep™ CD3/CD28 Sorting activated magnetic beads

Yang W, et al. A novel CTLA-4 blocking strategy based on nanobody enhances the activity of dendritic cell vaccine-stimulated antitumor cytotoxic T lymphocytes. Cell Death Dis. 2023 Jul 7;14(7):406.

IL-4

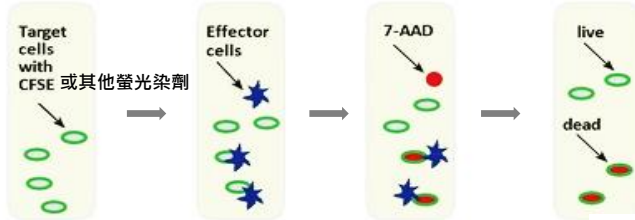
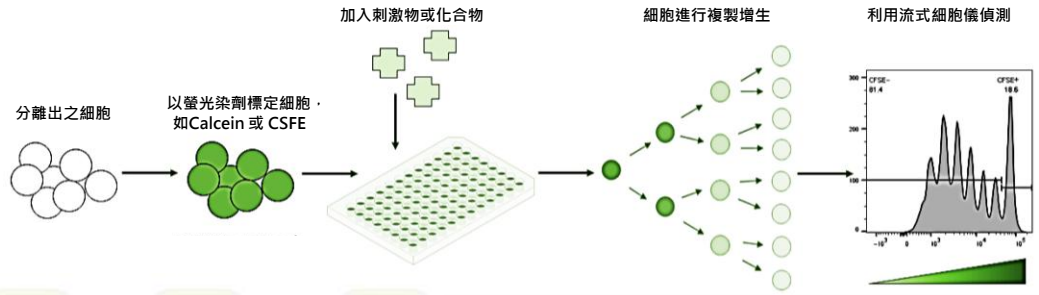
Liu X, et al. Synthesized peptides 705–734 from hepatitis C virus E2 glycoprotein induce dendritic cell maturation by activating p38 MAPK signaling. Int Immunopharmacol. 2016 Jan;30:194-201.

Human Monocyte-derived DC Differentiation Kit

1. Wang X, et al. Antigen/HLA-agnostic strategies for Characterizing Tumor-responsive T cell receptors in PDAC patients via single-cell sequencing and autologous organoid application. Cancer Lett. 2024 Apr 28;588:216741.
2. Ogino H, et al. Randomized trial of neoadjuvant vaccination with tumor-cell lysate induces T cell response in low-grade gliomas. J Clin Invest. 2022 Feb 1;132(3):e151239.
3. Shen S, et al. Engineered IL-21 cytokine muteins fused to anti-PD-1 antibodies can improve CD8⁺ T cell function and anti-tumor immunity. Front Immunol. 2020 May 8;11:832.

● 細胞增生試驗
Proliferation assay

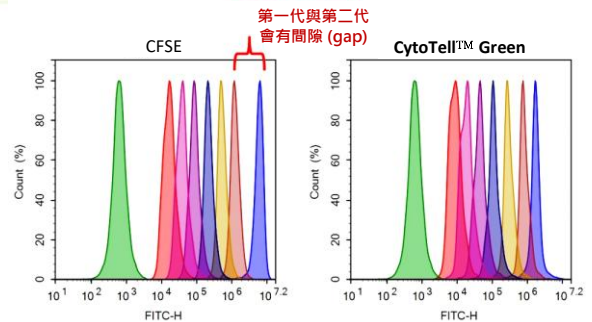
● 細胞毒殺試驗
Cytotoxicity assay



使用之名詞	定義
Effector cells	CAR-T, CAR-NK, TIL, CIK等等有毒殺能力之細胞
Target cells	腫瘤細胞株，如K562細胞
E/T ratio	Effector cell與Target cell之比例，與Effector cell之效力及Target cell裂解之靈敏度有關

□ 使用螢光染劑標定細胞 **AAT Bioquest®**

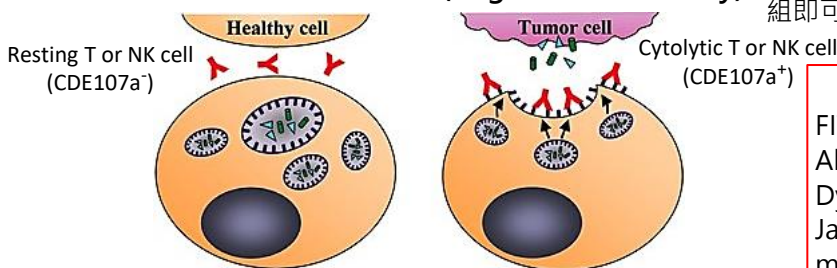
產品系列	產品名稱	包裝
Calcein	Calcein, AM	1mg, 20x50 ug
	Calcein UltraGreen™ AM	21905 (10x50 ug)
	Calcein Blue, AM	22007 (1mg)
	Calcein Red™ AM	21900 (1mg)
	Calcein Deep Red™ AM ester	22011 (1mg)
	Calcein UltraBlue™ AM	21908 (10x50 ug)
	CytoCalcein™ Violet 660, AM	21904 (10x50 ug)
CFSE	CFSE	22022 (25 mg)
	ReadiUse™ CFSE	22028 (5x500 ug)
CytoTell™	CytoTell™ Green	500 tests, 2x500 tests
	CytoTell™ UltraGreen	
	CytoTell™ Red 650	
	CytoTell™ Red 590	
	CytoTell™ Orange	
	CytoTell™ Blue	
	CytoTell™ Violet 500	



CytoTell™ 之優點 (與CFSE相比)

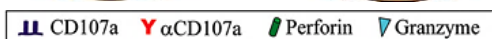
1. 毒性極低：只有些微毒性，可很好的保留於細胞中
2. 反應速度快：細胞之第一代及第二代間螢光強度間隔小。細胞分裂後，CytoTell™可均勻分布於子細胞中，可偵測到連續減半之螢光強度
3. 使用方便：不需移除培養基，因CytoTell™不會與細胞培養基反應
4. 靈敏度高：第9代子細胞仍可觀察的到訊號
5. 穩定度高：CytoTell™原液可置於室溫下儲存幾天
6. 後續可進行胞內染色：標定之細胞可進行一般之固定(含formaldehyde之固定液)及打洞(saponin為基底之打洞液)，利於之後偵測其他胞內(intracellular)蛋白
7. 與原有機器相容：CytoTell™ Green 使用FITC濾片模組即可偵測 (Ex: 488nm · Em: 520nm)

□ 使用CD107a抗體偵測 (degranulation assay)



CD107a抗體有多種螢光可選擇：
 FITC, PE, APC, PerCP
 Alexa Fluor 350, 405, 488, 532, 594, 647, 700, 750
 DyLight 350, 405, 488, 550, 594, 650, 680, 755
 Janelia Fluor 525, 549, 585, 635, 646, 669
 mFluor Violet 450 SE, 500 SE, 610 SE

References:



Calcein

1. Antillon K, et al. Directing CAR NK cells via the metabolic incorporation of CAR ligands into malignant cell glycans. ACS Chem Biol. 2022 Jun 17;17(6):1505-1512.
2. YH Chen, et al. Titering of Chimeric Antigen Receptors on CAR T Cells enabled by a Microfluidic-based Dosage-Controlled Intracellular mRNA Delivery Platform. bioRxiv [Preprint]. 2023 Mar 15:2023.03.14.532624.

CytoTell

1. Luostarinen A, et al. Optimizing lentiviral vector formulation conditions for efficient ex vivo transduction of primary human T cells in chimeric antigen receptor T-cell manufacturing. Cytotherapy. 2024 Apr 7:S1465-3249(24)00600-5.
2. Huang J, et al. Interleukin-7-loaded oncolytic adenovirus improves CAR-T cell therapy for glioblastoma. Cancer Immunol Immunother. 2021 Sep;70(9):2453-2465.
3. Nakajima M, et al. Improved survival of chimeric antigen receptor-engineered T (CAR-T) and tumor-specific T cells caused by anti-programmed cell death protein 1 single-chain variable fragment-producing CAR-T cells. Cancer Sci. 2019 Oct;110 (10):3079-3088.

■ 細胞存活率 (Cell viability) SOL COUNT自動細胞計數儀

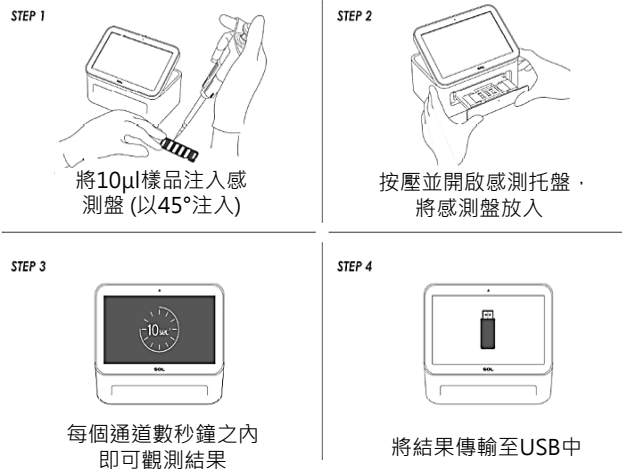
****人類細胞治療製劑可接受之最低細胞存活率為70%****

SOL COUNT 自動細胞計數儀採用全新技術，可對多種細胞類型進行自動計數。SOL COUNT利用Lens Free無透鏡LED 光學元件和 CMOS 傳感技術，快速準確地測量細胞，包含活細胞和死細胞的總數，並可同時測量兩種細胞，並輕鬆存儲和傳輸數據。

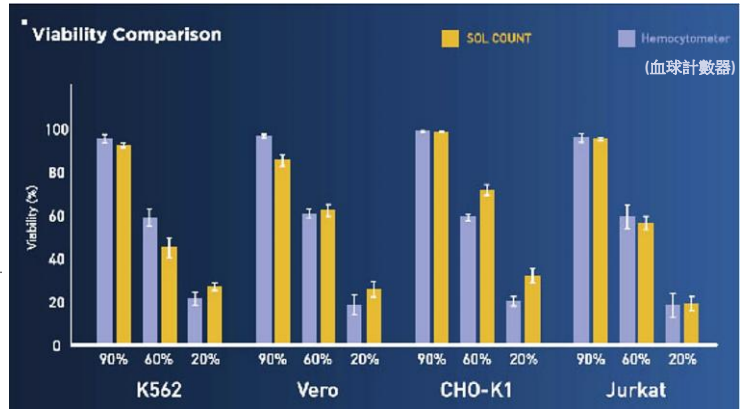


- 快速：利用晶片技術，從加樣品到結果只10秒。
- 簡單：只需4步驟，即可完成細胞計數。
- 準確：可計算細胞濃度及活細胞數，且無人為誤差。
- 省時：每一感測盤有4個通道，每次可計數2個不同樣品。
- 輕鬆：數據可存放雲端或USB，存取輕鬆且方便。

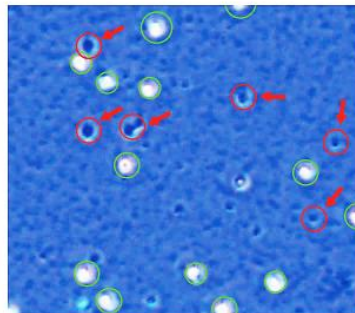
● 操作步驟簡單-只需4個步驟



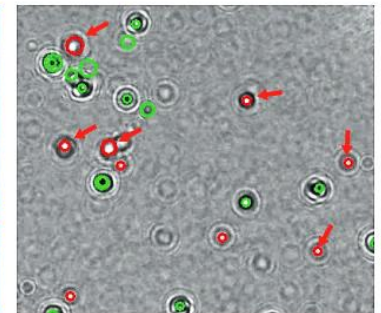
● 與傳統血球計數器相比，準確度高



Microscopy Image



SOL Image



○ Live cell ○ Dead cell

● 已測試之細胞株

細胞名稱	細胞種類	細胞名稱	細胞種類
K-562	骨髓性白血病細胞	Colo25	直腸腫瘤細胞
Vero	猴腎細胞	MRC-5	纖維母細胞
A549	非小細胞肺癌細胞	THP-1	單核球細胞
HT-29	人類大腸癌細胞	U-87MG	人類神經膠質瘤細胞
NIH3T3	小鼠纖維母細胞	HepG2	人類肝癌細胞
HeLa	人類子宮頸癌細胞	CHO-K1	中國大倉鼠卵巢細胞
MCF-3	乳腺癌細胞	L-929	纖維母細胞

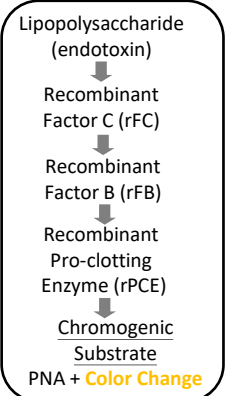
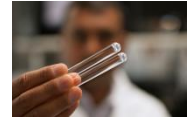
● 細胞染劑

品名	貨號	包裝
Trypan blue (0.4%)	TPB01-100	100ml
其他相關(螢光)染劑		
Acridine orange	17502 17503	100mg 10ml
Propidium iodide	17515 17585	25mg 5ml
7-AAD	17501	1mg

鰹試劑 (Limulus amoebocyte lysate · LAL) 是由鰹魚血液所萃取的物質，遇到內毒素時會產生凝集反應凝固成膠，而發展出來偵測內毒素的試劑。由於其靈敏度高且操作簡便，因此成為最普遍且受歡迎的內毒素試劑。

鰹試劑有三種用法：凝膠法、比濁法、比色法。Charles River之Endosafe® 內毒素試劑是經過美國FDA所認可的內毒素檢測試劑，利用優良的配方，不但增加了靈敏度，更提供更好的線性，並降低干擾。

- **Gel-Clot LAL (凝膠法)**：利用鰹試劑與內毒素反應會產生凝膠，利用凝膠的生成與否來偵測內毒素，為最早發展出來的簡易內毒素檢測方法，無需任何偵測儀器，以肉眼直接觀察凝膠形成狀態來判別。
- **Kinetic Turbidimetric LAL (動力濁度法)**：此法可定量內毒素之數值，反應時間與凝膠法相近或更少。當有內毒素存在時，鰹試劑在形成凝膠前會先產生混濁，當內毒素含量愈高時，混濁愈快形成。在反應後可用分光光度計連續偵測混濁的程度 (OD 值)，並據此對樣品中之內毒素進行定量。因KTA可利用多管操作或96孔孔盤操作，亦可做凝膠法，故減少了兩種方法轉換的問題。KTA²則為第二代之動力濁度法，反應時間比KTA更快速且靈敏度更高(0.001 EU/ml)。
- **Kinetic Chromogenic LAL (動力呈色法)**：原理與濁度法相同，但在試劑內加入呈色劑，以顏色深淺來取代混濁的狀態。Endochrome-K LAL 包含了呈色法所需的呈色受質及鰹試劑，且偵測靈敏度 (0.001 EU/ml) 更高。
- **Endosafe® Trillium® (動力呈色法)**：Trillium 利用重組技術生產鰹血試劑的關鍵生物蛋白 (Factor C、Factor B 及 pro-clotting enzyme) 來模擬天然鰹試劑的反應。其專一性高，可消除 1,3-β-D-glucans 干擾造成的偽陽性風險。



方法	內容物	靈敏度 (EU/mL)	貨號	包裝
Gel-Clot LAL (凝膠法)	50-tests vial (5.2 mL)	0.015	R15015	12 vial/cs
		0.03	R15003	
		0.06	R15006	
		0.125	R11012	
		0.25	R11025	
Kinetic Turbidimetric LAL (動力濁度法)	KTA 50-tests vial (5.2 mL)	0.015	R15015	12 vial/cs
		0.03	R15003	
		0.06	R15006	
	KTA ² 50-tests vial (5.2 mL)	0.005	R19000	
Kinetic Chromogenic LAL (動力呈色法)	Endochrome-K™ (3.2 mL)	5-0.005**	R17100	100 vial/cs
	Endochrome-K™ kit 8 X 3.2 mL vial 2 X 10 ng control standard endotoxin 3 X 30 mL LAL reagent water		R1708K	256 tests
	5 X 1.4 mL vials of chromogenic LAL 1 X 10 mg vial of chromogenic substrate 2 X 2 ng vials of endotoxin 2 X 30 mL vials of LAL reagent water 1 X 15 mL 0.05 M vial of Tris buffer	-	R160K	140 tests
Endosafe® Trillium® (動力呈色法)	Trillium rCR Vials 32-tests vial (1.7 mL)	0.001-100	RCRV3032	6 vial/cs

**若有需要可提供靈敏度高(0.001)之批號

Mycoplasma Detection Kit 黴漿菌檢測套組

目前檢測細胞污染之黴漿菌有多種方法

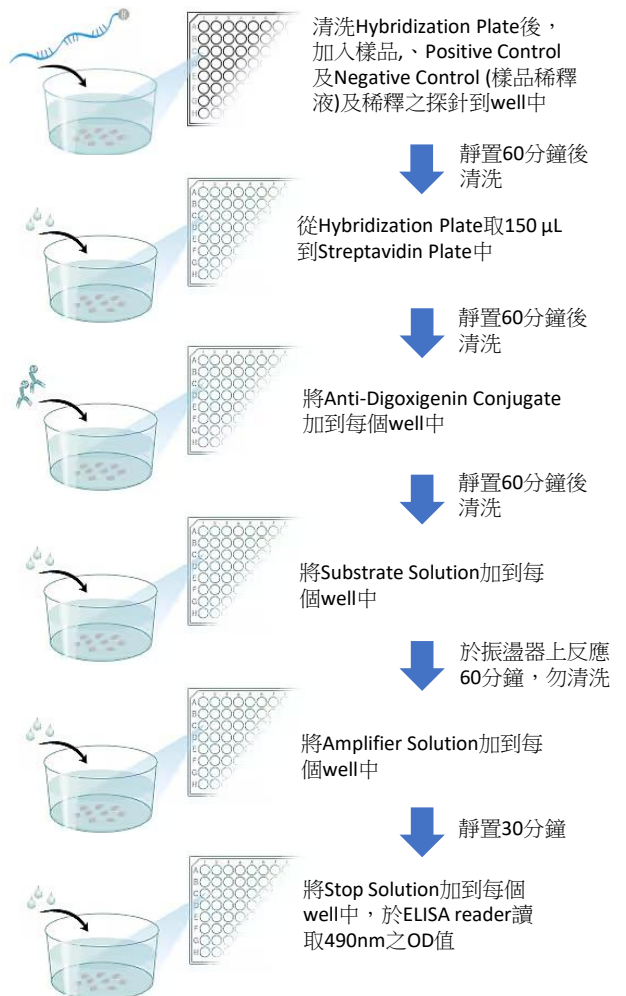
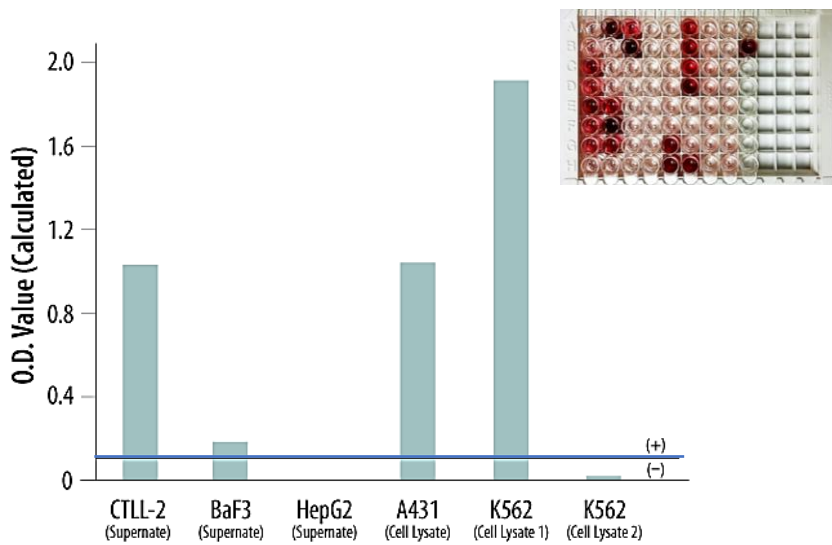
1. 黴漿菌培養：最直接之方法且靈敏度最高，但耗時需要2-4週，且有些黴漿菌難以在培養基培養出來
2. DNA螢光染色：利用螢光染劑會結合到黴漿菌的DNA上，判讀細胞旁的螢光小點。效率最快，但容易有背景干擾，如細胞之背景螢光或細胞裂解後自身之染色體
3. ELISA：偵測黴漿菌抗原，為普遍之方法但靈敏度不高
4. PCR：利用專一性之引子來擴增黴漿菌之DNA，靈敏度高，可偵測不易培養之菌種，但易有偽陽性或偽陰性的結果
5. 生化活性分析：不同細胞株間的結果常不一致

● Biotechne利用黴漿菌專一性之引子及訊號放大來偵測黴漿菌，檢測套組包含所有之試劑，不需額外優化。

- 減少實驗上的誤差
- 精準且靈敏度高 (與PCR相比)
- 高通量之多孔盤呈色法，操作簡易 (類似ELISA)
- 不需抽取DNA
- 操作過程只需4.5小時
- 樣品不拘，新鮮或冷凍之細胞或細胞培養液皆可偵測
- 偵測8種常見之黴漿菌種類：M. hyorhinitis、M. arginini、M. fermentans、M. orale、A. laidlawii、M. pirum、M. hominis及M. salivarium (前5種黴漿菌佔80-85%細胞污染之來源)

□ 可偵測不同細胞株之培養液及細胞裂解液中的黴漿菌

操作流程



OD值	結果	判讀結果
< 0.05	陰性	沒有偵測到黴漿菌
0.05~0.10	無法定論	懷疑有黴漿菌，需額外再培養2-3天再進行測試。若OD值結果與之前類似，則無黴漿菌污染。
> 0.10	陽性	有黴漿菌污染

* Positive control的OD值會 > 1.5

- **細胞凍存** 在細胞治療中，「細胞自人體取出、送至製備場所」及「離開製備場所至回輸人體」這兩段過程，都需經過-130°C以下的冷凍保存。

冷凍保存液

Bambanker™ 新世代細胞冷凍保存液



隨取即用

直接加入離心後之細胞，即可冷凍保存

不需液態氮桶

細胞於-80°C保存不影響存活率

不需階段式降溫

直接丟-80°C即可

品質穩定

GMP認證 & 日本製造，不含血清

細胞銀行背書

日本細胞銀行JCRB指定使用
(儲存超過1,400種細胞株)

效期長達二年

冷藏(4°C)保存即可

Cell Type	Bambanker			
	Standard	Direct	hRM	DMSO-Free
CAR-T cells	✓			
Cell Lines (>1400)	✓	✓	✓	✓
Embryonic Stem Cells	✓			
Heparinized Blood		✓		
Human Primary Cells			✓	
Human Stem Cells			✓	
Human iPSCs			✓	
Hybridomas		✓		
Organoid (Whole)	✓		✓	
PBMCs	✓		✓	

WAK - Chemie Medical GmbH



德國製造之細胞冷凍保存液



CryoSure-DMSO

成分：99.9% DMSO

包裝：10mL x 10；50mL x 6

✓ 純度高 (99.9%DMSO)，使用美國藥典等級 (USP Grade) 原料製造

✓ 根據GMP及DIN EN ISO 13408做無菌填充

✓ 通過GMP、ISO13485以及歐盟醫療器材(93/42/EEC)等認證



CryoSure-DEX40

成分：55% w/v DMSO+ 5% w/v Dextran 40

包裝：8mL x 25

✓ 可用於造血幹細胞及臨床上之應用，如臍帶血凍存、角膜、血小板及其他器官保存或生物製劑

✓ 亦可用於免疫學、細胞學或幹細胞等等研究

✓ 多篇paper引用，證實可用於CAR-T研究

cytiva 可控速率冷凍機

VIA Freeze™ Controlled-Rate Freezers

免液態氮程式降溫系統

- ✓ 不需使用液態氮，減少成本且可放入無塵室使用
- ✓ 與所有尺寸之凍管/袋相容
- ✓ 溫度紀錄報告均符合GMP標準
- ✓ 使用之致冷晶片能夠均勻控溫，不需額外設計降溫時凍管的擺放確效。



cytiva 自動解凍儀

VIA Thaw™ dry automated thawers

血袋/凍袋自動乾式解凍儀

- ✓ 自動化之乾式解凍模式，減少污染
- ✓ 直觀的操作介面，操作容易
- ✓ 內建5個紅外線溫度感測及攝像鏡頭，即時記錄解凍溫度，解凍完成並自動拍照



References:

Bambanker

1. Hirakawa M et al. Low-dose IL-2 selectively activates subsets of CD4+ Tregs and NK cells. JCI Insight. 2016 Nov 3;1(18):e89278.
2. Stec M, et al. Properties of monocytes generated from haematopoietic CD34+ stem cells from bone marrow of colon cancer patients. Cancer Immunol Immunother. 2013 Apr;62(4):705-13.
3. Deng X, et al. Method for producing nk cell-enriched blood preparation: U.S. Patent Application 13/980,777[P]. 2012-1-17.

CryoSure-DMSO

1. Tsimberidou AM, et al. Feasibility and Safety of Personalized, Multi-Target, Adoptive Cell Therapy (IMA101): First-in-Human Clinical Trial in Patients with Advanced Metastatic Cancer. Cancer Immunol Res. 2023 Jul 5;11(7):925-945.
2. Glienke W, et al. GMP-Compliant Manufacturing of TRUCKS: CAR T Cells targeting GD2 and Releasing Inducible IL-18. Front Immunol. 2022 Mar 24; 13:839783. p.27