



全密閉式細胞生物反應器 顛覆您的細胞培養 —



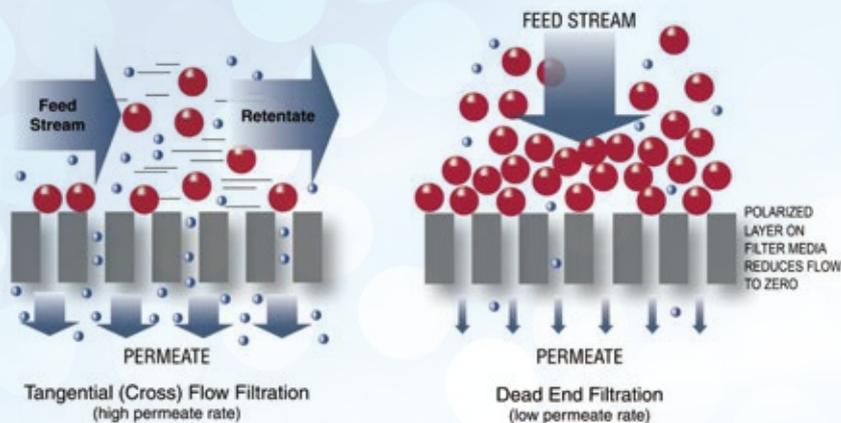
FiberCell

撰文：劉慶鴻

中空纖維生物反應器 (hollow fiber bioreactor) 是使用切向流過濾 (Tangential Flow Filtration) 原理隔離細胞與培養液，在纖維外壁培養細胞的裝置。提供研究人員和生物技術公司生產大量的細胞產物。

所謂切向流過濾，是指濾液沿著過濾膜流動，使流動方向與過濾方向垂直，因此液體流動過程即可進行過濾外，大分子樣品不會持續堆積在膜上，會隨著液體流動散開，保持通透膜的乾淨與降低濃縮所引起的極化現象 (Concentration Polarization)，可提升過濾效率與延長過濾膜的使用壽命 (如圖一所示)。另一方面，尚未過濾的分子可由經過幫浦再次循環過濾，故無樣品損失，可降低使用成本。

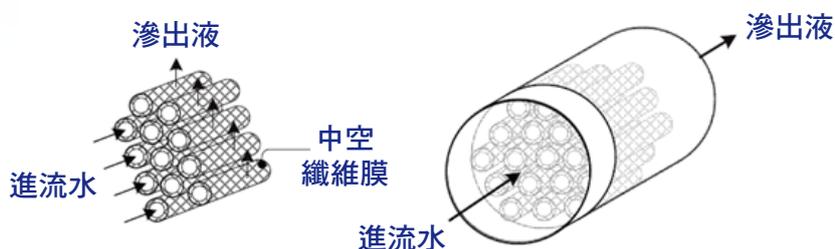
圖一



切向流過濾目前常見到的有三種，中空纖維膜 (Hollow Fiber)、螺旋狀過濾 (Spiral Wound) 與平板過濾 (Flat Plate)。以細胞為主的使用者，中空纖維膜 (Hollow Fiber) 會是最好的選擇 (如圖二)，因為其將薄膜製成如髮絲般的中空纖維狀，再收攏於管內，故無需支撐體支撐薄膜，因此填充密度高，有極大的表面積培養細胞。

美國 FiberCell System 公司致力開發於中空纖維膜生物反應器，並設計了三種纖維材質可供使用者選擇：Polysulfone、Cellulosic 和 PS+，每條纖維皆為半透膜，另可選擇孔洞大小：5、20 或 100 KD，因此能將您所需求的產物留滯於纖維外的空間中，培養液通過半透膜不斷將養份提供給細胞，並將代謝廢物輸出且將細胞分泌出的產物持續保存在管柱內。

圖二

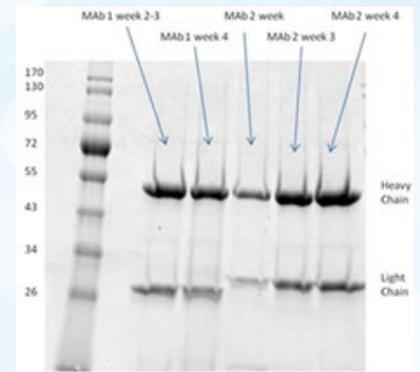


- Polysulfone 可以快速交換膜內外營養物與代謝物，將有助於細胞生長與蛋白質生產，因此貼附型或者是懸浮型細胞均適合使用。
- Cellulosic 通常不在細胞培養使用，因為它們的過濾速度較慢不適合細胞生長。主要用於毒理學實驗。
- PS+ 有獨特的化學特性，使蛋白基、抗體和細胞分泌物也可以結合到 Fiber 的表面上，通常用於內皮細胞培養及型態研究等實驗。

FiberCell 中空纖維生物反應器（Hollow fiber bioreactor）優點：

一 高產量高純度

- 1 能夠獲得高濃縮、高濃度的蛋白質
 - ▶ 尤其一些產量稀少如：Rabbit monoclonal antibody，利用 Flask 培養時的產物濃度幾乎低到無法偵測，更需要利用此系統來提高抗體生產濃度!
 - ▶ 生產抗體的濃度是一般 Flask 和 Spinner culture 的 100 倍!!
- 2 高細胞培養密度 (>100~200 cm²/mL) 使單位產量濃度更高!
 - ▶ 細胞培養量：20-mL hollow fiber = 2L spinner flask = 20 ~ 40 roller bottles，節省培養空間與耗材消耗。
- 3 生產過程中其他小分子蛋白會經過中空纖維的篩濾，最終的目標蛋白不會受到其他蛋白、DNA、RNA、protease 等干擾，產物純淨而減少純化的麻煩！
 - ▶ 不需特別純化就可獲得乾淨的產物(圖三)
 - ▶ 尤其配合無血清成份的血清替代產品—CDM-HD，產物更乾淨、更好純化。
- 4 中空纖維的孔隙篩濾可依蛋白質的大小 (molecular weight cut-off (MWCO)) 來選擇，因此可濾掉目標蛋白大小以下的小分子物質，保留您的蛋白，減少其他物質干擾。



圖三

二 培養時間持久

生產過程可維持很久的時間，連續不間斷的培養與生產。

- ▶ 例如 Hybridoma 的抗體生產培養，已被證明可利用中空纖維管柱培養超過一年的時間，使生產蛋白的過程超簡單！就像養了一頭會生產抗體的乳牛在培養箱中，永遠不用煩惱抗體來源，且因有濃縮的特性，毋須過多純化步驟。

三 生產環境貼近體內

生產環境貼近生物體內真實細胞 3D 生長環境，蛋白質的完整性或是轉譯後修飾作用(post-translation modification) 例如：醣基化或是蛋白質的折疊 (protein folding) 等等，會比一般用 Flasks、Spinner flasks、以及 Microcarriers 準確率高！

另外中空纖維管柱的多種應用：從蛋白質與抗體生產、內皮細胞培養、造血相關疾病研究、製作 conditioned medium、體外毒性研究與分析、病毒擴增、幹細胞培養以及收集細胞分泌物 (Secretome) 來進行下游分析，將打開你更廣闊的研究視野，將傳統 2D 的培養方式延伸至更貼近人體環境的 3D 真實培養，相關研究者千萬不可以錯過！



FiberCell

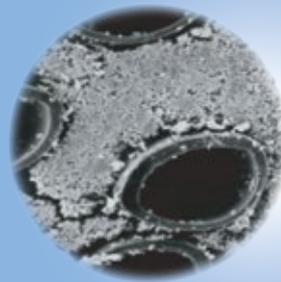
細胞培養的新寵兒

應用領域

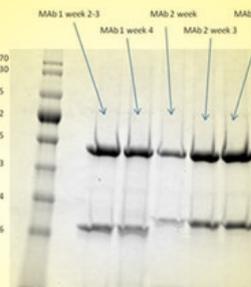
- 疫苗的製備
- 體外毒性研究與分析
- 病毒的擴增
- 白血病研究
- 分泌型蛋白的製備
- 單株抗體的製造
- 內皮細胞培養及形態研究
- 細胞感染試驗
- 淋巴細胞擴增及培養
- 直接從胎盤將細胞抽出培養



一個等於
20個旋轉
培養角瓶



細胞生長
於纖維外
空間



未經純
化就如
此乾淨

Catalog No.	Size	Surface Area	Fiber Type	Packing Density	ECS Vol	MWCO 50%	Max. Cell#
C2025	Small	75 cm ²	activated PS	30%	2.5 mL	0.1 μm	10 ⁸
C2008	Medium	3000 cm ²	low flux PS	50%	20 mL	5 kd	10 ⁹
C2011	Medium	3000 cm ²	high flux PS	50%	20 mL	20 kd	10 ⁹
C2003	Large	1.2 m ²	low flux PS	50%	70 mL	5 kd	5 x 10 ¹⁰
C2018	Large	1.2 m ²	high flux PS	50%	70 mL	20 kd	5 x 10 ¹⁰
C4005	X-Large	2.5 m ²	low flux PS	50%	150 mL	5 kd	10 ¹¹
C3008	Medium	2000 cm ²	Cellulosic	38%	12 mL	10 kd	10 ⁹
C4020	X-Large	2.5 m ²	high flux PS	50%	150 mL	20 kd	10 ¹¹
C5011	Medium	3000 cm ²	high flux PS	50%	20 mL	20 kd	2 x 10 ⁹
Oxy0.6	80mL	6000 cm ²	Hydrophobic Polyethylene	N/A	40 mL	100 kd	N/A

你知道嗎?

FiberCell

小撇步!



串聯你的培養液

多數使用 C2018 和 C2003 使用者培養到後期，因為細胞數可達 $1\sim 3 \times 10^{10}$ (約 200-400 滾瓶的細胞量)，一天都可以多次收到大量細胞或細胞產物，但因中空纖維內部細胞數量相當大，所以細胞代謝快時，可能導致一天也需要更換多次培養液 (達 2L/Day)，造成操作上的不便利。其實，不妨將你的兩罐培養液使用矽膠管串連起來，就可以當作一組大型的培養液來使用，節省您每日更換培養液的時間。



細胞生長停滯了怎麼辦?

有時研究人員置入中空纖維內部細胞過少，有時候細胞就會進入停滯期。此時期的細胞生長力或者產物的分泌量都顯著的下滑，為改善此狀況研究人員不妨可以使用下列建議：

- 1** 減少培養液體積至 125 毫升
 - ▶ 細胞分泌物有利於細胞生長。因此我們減少培養溶液，細胞分泌物濃度可提升，將有助於回到生長期。
- 2** 接種更多細胞到中空纖維管柱
 - ▶ 可以提高細胞與細胞相互作用，或者是提高細胞分泌物的濃度，都有助於細胞再次回到生長期。
- 3** 等待幾天
 - ▶ 有時候放著幾天，等待細胞適應環境後就會回到生長期。