

組織培養新紀元

HyClone HyStem Hydrogel

黃華盈 撰

近年來生命科學的蓬勃發展與醫療的進步，在在都讓人嘆為觀止；這不僅僅是延長了人類的壽命，也將生命的價值提升到更完美的境界。而隨著年齡增長，人類的神經也會隨之老化，以及產生器官退化等現象，更不用說因為疾病或是意外所造成不可逆的器官損傷的遺憾。目前所有的治療方式不外乎是採取替代性的移植手術，例如植入人工替代物、器官移植。但是這些方法仍然有其困難度存在，如生物材質會引起過敏現象，無法完全與人體磨合而產生慢性發炎，需定期更換，無法永久取代或是苦無器官捐贈者，以及最常見的排斥問題等等。所以近年來科學家們結合最新的幹細胞研究或是細胞治療等等的研究發展與最新的組織工程研究，讓患者能使用自身的少量細胞即可體外培養出所需的組織器官，植回人體修復體內組織或器官缺損。這樣的期待讓科學家們投入大量心力於組織工程研究之中。

但是我們都知道，生物體是一個很奇妙環境，在不同的環境下，一個全能的胚胎幹細胞藉由之間相互的連結與溝通，就可以發展成多種組織與器官。所以一個細胞要長成一個特定的組織或器官是需要一個最適合的環境與營養物質才能夠孕育而成。舉例來說：造骨過程需要一個立體的空間，讓骨細胞有正常的生理功能，也才能讓骨細胞正常的運作發展出完整的骨組織；同樣地，神經組織的發展也需要 3D 立體空間才能讓多種不同的細胞(神經元，神經膠細胞，結締組織與血管)進行協同作用，擁有正常的神經傳導功能。所以說發展一個成熟的組織需要有很多種因素與條件所相輔相成，缺一不可。其中有三個最重要的關鍵因子：細胞，支架(Scaffold)與訊息因子。首先無庸置疑地，要有具有良好分化與增生能力的細胞。再者，要有支架才能讓細胞得以按照規劃的方式生長。同時施予訊息因子去誘導細胞在支架上正確地生長，增生，遷移與分化，才能完成整個組織架構形成器官。

現今的研究發展技術已經能夠很輕易的得到幹細胞，例如臍帶血，乳牙，成體幹細胞或是現在最夯的 iPS 細胞(Induced pluripotent stem cells)等等，都能夠取得具有潛力的健康細胞。而各種細胞所需的相關生長因子都已有大量文獻可供參詢，所以就不在此著墨。所以說，現在遇到最大的挑戰就是「支架」問題。所謂的細胞支架是指最基礎的生物體內架構，由多

種葡萄糖胺聚醣(Glucosaminoglycan, GAG)和各類蛋白質所構成的細胞外基質(Extracellular matrix, ECM)，提供細胞貼附並誘導分化。雖然市面上販售或是生物工程實驗室自行研發出的各式各樣支架可供各位研究者使用，但是這些產品還是有其限制性存在，很難得到真正具有正常生理功能或對人體不具危險性的組織，所以還是無法完全的解決應用在人體內的種種排斥或不適應的問題，因此科學家們仍在持續努力克服中。

以現今常見的研究 Model — Hydrogel (統稱)為例，這是一種由多種非水溶性的葡萄糖胺聚醣(Glucosaminoglycan, GAG)構成，充滿百分之九十九水分子的凝膠體。又因來源不同而有分為很多種類，有取自生物體內(小鼠)的細胞外基質以及非動物性來源的產品等等。概略來說，這種 Hydrogel 生物性水凝膠有相當多的優點：

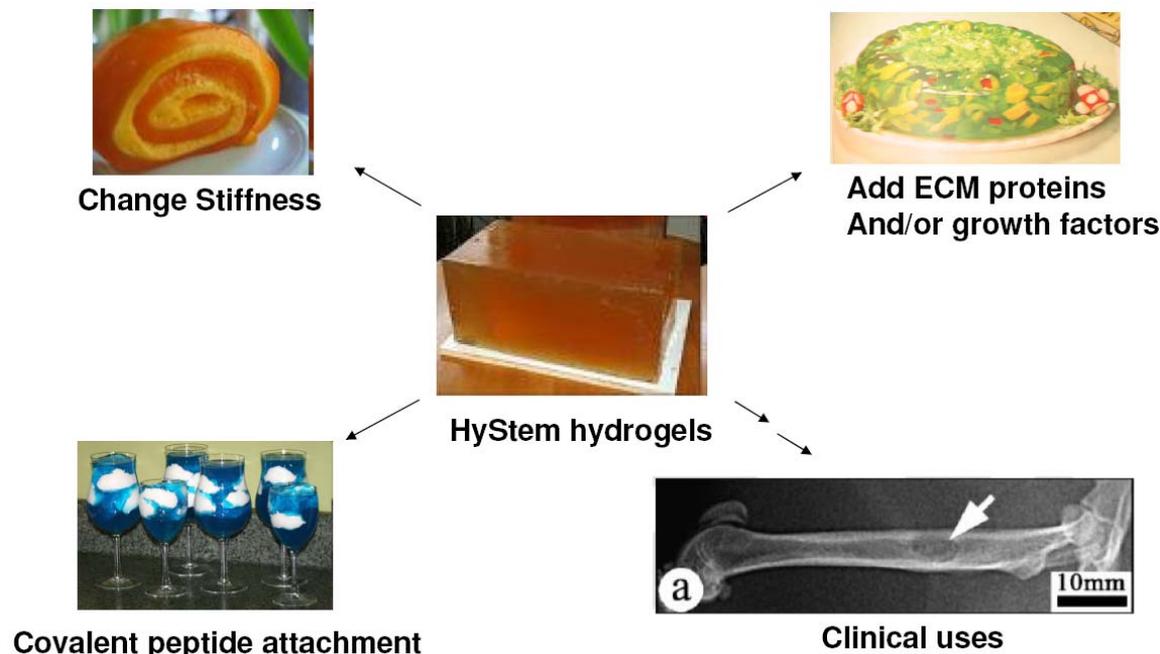
1. 為高含水量的細胞外基質所構成，成分近似於天然的組織結構，模擬生物體內環境。
2. 可提供 2D 或 3D 的空間讓細胞生長與貼附，方便使用者製作組織模型。
3. 能夠讓細胞或組織生長，可應用於細胞生物學，癌症生物學，組織工程等等各種研究。
4. 可以額外添加訊息因子，如特殊蛋白，激素，賀爾蒙等等，能夠研究細胞或組織的生長，增生，遷移與分化情況。

種種上述優點無一不是研究者的福音。但是由這麼好的 Model 所延伸出來的現有市售商品的確還是存在著許多小缺點，例如：動物性來源的材料無法應用於人體試驗；溫度改變會使凝膠體的外型改變造成塑型的困難度大大提升；動物性來源成分極為複雜，無法控制單一實驗變因，大大降低實驗結果的可靠度；每次得到的凝膠品質無法一致，造實驗施行上的困擾與人力金錢的浪費等等。

供應全球血清與培養基的生技大廠 — Thermo Scientific HyClone 提供了有別於以往的全新無動物性來源凝膠 HyStem Hydrogel 系列產品，是經測試可供幹細胞培養使用的安全研究模式，不僅能夠提供前述 Hydrogel 凝膠所有的優點，並改善其缺點，讓科學家們可以無後顧之憂的進行 2D 細胞培養以及 3D 幹細胞分化研究¹，更可將之應用於 96-well, 6-well, Culture Inserts 或是任何形狀的



容器進行細胞培養。除此之外，更令人開心的是它還能夠簡單的調整其膠體的軟硬程度與內容物成分(圖一)，讓整體的培養環境調整到最佳細胞生長狀態，可以隨心所欲設計您的實驗!!



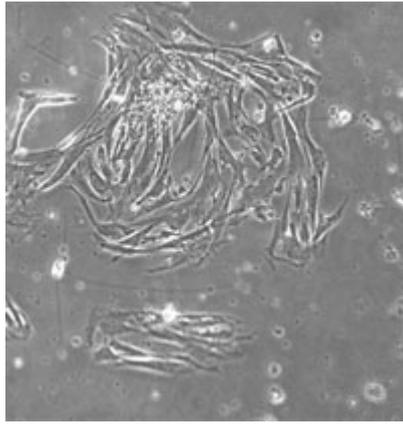
圖一：HyClone HyStem Hydrogel 可以任意的改變其外形、軟硬程度與內含添加物。

HyStem Hydrogel 這一系列產品的成分主要是提供細胞或組織一個近似於天然生長狀態的胞外基質架構，分為三大類產品套組(表一)，提供研究者非常彈性的新選擇! 其內含物包含下列特殊材質：

	DG Water	Modified hyaluronan	Modified gelatin	Modified heparin	Extralink
HyStem	✓	✓			✓
HyStem-C	✓	✓	✓		✓
HyStem-HP	✓	✓	✓	✓	✓

表一：HyClone HyStem hydrogel 產品成分表

1. 硫醇化修飾的玻尿酸(Thiol-modified Hyaluronic acid)：為單一成分的胞外基質，經測試可以讓細胞具有正常良好的生理特性，如圖二。成份為非動物性來源，不需擔心來源會影響實驗結果。



圖二：人類間質幹細胞(第五天)生長於添加非共價鍵結第一型膠原蛋白(Collagen I)的 HyStem Hydrogel 之情形。

2. Extralink (polyethylene glycol diacrylate) :

為一連接劑(Crosslinker)，可維持細胞外基質的整體架構定型，不會因溫度或是 pH 改變而變成液態或改變形狀，讓您的實驗操作更容易²。

而 HyStem 系列產品中的 HyStem-C 與 HyStem-HP 特殊項目，可針對不同實驗需求而選擇不同材質如下：

3. 特殊蛋白 Gelin-S (Thiol-modified gelatin) :

添加此蛋白可以幫助細胞進行貼附，更貼近天然的組織環境!^{1,3}

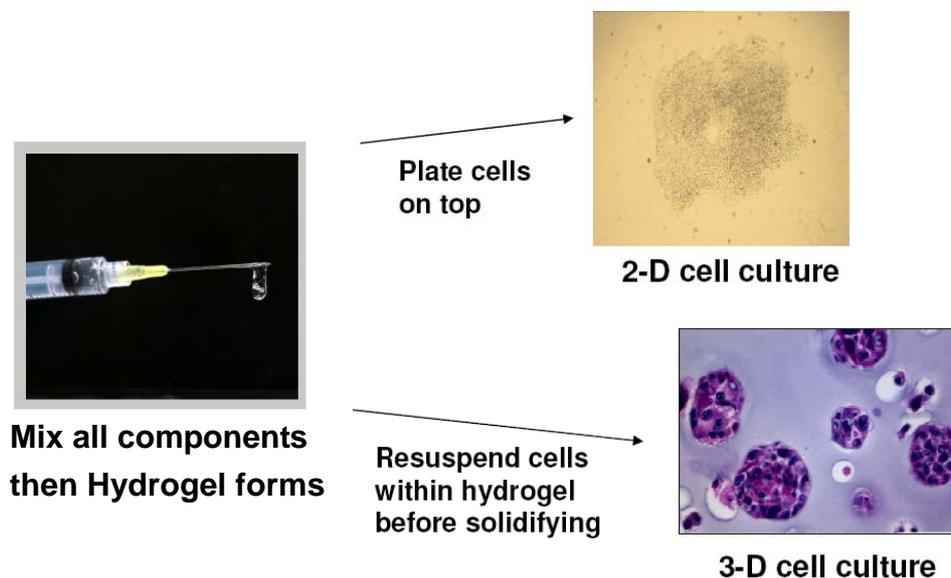
4. 特殊修飾的肝素(Thiol-modified heparin)，HyStem-HP Hydrogel Kit 限定：肝素能夠結合特定蛋白，如生長因子等(表二)。所以添加肝素就可以延緩這些生長因子蛋白被分解(proteolysis)的時間，讓生長因子慢慢釋放，以調節細胞生長或細胞分化；不同的生長因子如 bFGF，VEGF，Ang-1，PDGF，TGFβ1，KGF 會依不同速率在數周內慢慢釋放⁴⁻⁶。

Protein	Physiological effect of binding
Antithrombin	Systemic anticoagulation
t-Plasminogen activator	Clot dissolution
FGF family	Mitogenesis
HGF	Mitogenesis
apoE	Lipoprotein clearance
IL-8/MIP-1d	Inflammation
Fibronectin	Cell adhesion
Laminin	Cell adhesion
Collagen V	Cell adhesion

表二：
可以與肝素(Heparin and heparan sulfate)結合的蛋白

以上各種特殊成分의各種組合配對，可以得到超乎您所想像的各種應用性！不失為進行實驗的一個好模式系統。而且至今已證實使用 HyStem hydrogel 系列產品成功培養並持續增殖的幹細胞細胞株有：人類胚胎幹細胞(Human embryonic stem cells, H9s)^{7,8}，臍帶血幹細胞(Umbilical cord blood CD34+ stem cells)⁹，肝幹細胞(Hepatic stem cells)¹⁰，肝前驅細胞(Hepatic

progenitor cells)¹⁰，脂肪幹細胞(Adipose derived stem cells)¹¹，間質幹細胞(Mesenchymal stem cells)¹²⁻¹⁴ 以及神經前驅細胞。不論是 2D 或是 3D 系統的培養都可以得到很好的結果。相信這些令人振奮地成功資訊可以讓各位研究者不必浪費太多試誤時間，就可以更快得到您最佳化條件的培養系統。



結合幹細胞治療的組織工程研究可說是現在最令人期待的新星，能夠大大降低所有人工材質或是器官移植的缺點，HyStem Hydrogel 這一系列產品可以降低排斥亦對人體不具危險性，更提供了一個嶄新的介面讓研究者自由無阻礙的進行手邊的研究。再者，從研究者發現神經元可以再生的那一刻起，人類就以非常快速的腳步邁向生命科學研究的新世紀；而且科學家已經陸陸續續找出諸多神經疾病的致病原因，所以相信再過不久，中風患者，因疾病或意外受傷的患者都能夠再度康復，人類神經組織修復非難事！為生命科學研究與醫療技術發展史上再添一筆輝煌紀錄。

參考文獻：

1. X. Z. Shu, *et al.*, Synthesis and Evaluation of Injectable, In Situ Crosslinkable Synthetic Extracellular Matrices (sECMs) for Tissue Engineering, *J. Biomed Mater. Res. A*, 79A(4), 901-912 (2006).
2. G. D. Prestwich, *et al.*, 3-D Culture in Synthetic Extracellular Matrices: New Tissue Models for Drug Toxicology and Cancer Drug Discovery, invited, *Adv. Enz. Res.*, in press (2007).
3. X. Z. Shu, *et al.*, Disulfide-crosslinked Hyaluronan-Gelatin Hydrogel Films: A Covalent Mimic of the Extracellular Matrix for In Vitro Cell Growth, *Biomaterials*, 24, 3825-3834 (2003).
4. S. Cai, *et al.*, Injectable glycosaminoglycan hydrogels for controlled release of human basic fibroblast growth factor, *Biomaterials*, 26, 6054-6067 (2005).

5. D. B. Pike, *et al.*, Heparin-regulated release of growth factors in vitro and angiogenic response in vivo to implanted hyaluronan hydrogels containing VEGF and bFGF, *Biomaterials*, 27, 5242–5251 (2006).
6. Unpublished data from G. D. Prestwich, *et al.*, University of Utah, and R. Peattie, *et al.*, University of Oregon.
7. Unpublished data from Xuejun Wen's lab, Clemson University and Medical University of South Carolina.
8. Unpublished data from Liisa Kuhn's lab, University of Connecticut
9. Unpublished data from Linda Kelley's lab, University of Utah, and Glycosan
10. W.S. Turner, L.M Reid, University of North Carolina, manuscript submitted
11. Flynn, *et al.*, Adipose Tissue Engineering with Naturally-derived Scaffolds and Adipose-derived Stem Cells, *Biomaterials*, 28, 3834-3842 (2007)
12. Y. Liu, *et al.*, Osteochondral Defect Repair with Autologous Bone Marrow- Derived Mesenchymal Stem Cells in an Injectable, in situ Crosslinked Synthetic Extracellular Matrix, *Tissue Eng.*, 12, 3405-3416 (2006).
13. Unpublished data from Glycosan
14. Unpublished data from Yongzhi Qiu, Robert McCall, Vladimir Mironov, Xuejun Wen, Clemson University, and Medical University of South Carolina.

產品資訊：

1. **HyStem Hydrogel Kit** SV30138.02
2. **HyStem-C Hydrogel Kit** SV30139.02
3. **HyStem-HP Hydrogel Kit** SV30140.02
4. **AdvanceSTEM™ Mesenchymal Stem Cell Expansion Kit** SH30875.KT
5. **AdvanceSTEM™ Adipogenic Differentiation Kit** SH30876.KT
6. **AdvanceSTEM™ Chondrogenic Differentiation Medium** SH30889.02
7. **AdvanceSTEM™ Osteogenic Differentiation Kit** SH30877.KT
8. **AdvanceSTEM™ Neural Differentiation Kit** SH30892.KT



LIFE SCIENCE
TECHNOLOGIES

岑 祥 股 份 有 限 公 司

台北：02-27851156

台中：04-24710255

高雄：07-3431735

www.thco.com.tw

info@thco.com.tw