

使用搅拌釜式生物反应器培养的人脐带间充质干细胞，研究其代谢表型稳定不变及用于细胞疗法的适宜性

Silvia Tejerina¹, Kayla Sylvester², Vincent Dufey¹, Aude Sauvage¹, Tony Lauer², Natasha Karassina², Jolanta Vidugiriene², Françoise de Longueville¹

¹ Eppendorf Application Technologies S.A., Namur, Belgium

² Promega Corporation, Madison, Wisconsin, USA

联系方式: bioprocess-experts@eppendorf.com

摘要

人脐带间充质干细胞 (hMSC, Human Mesenchymal Stem Cell) 疗法具有潜在的再生和免疫调节特性，在多个医学领域拥有广阔的发展前景。hMSC 疗法能否成功，取决于能否产生大量可在体内存活并发挥作用的代谢适应性细胞。MSC 需要经过大量增殖，才能产生用于治疗的人体细胞。了解其代谢途径对优化培养条件、营养供给和氧气水平及实现快速、高效的细胞扩增至关重要。适当控制代谢有助于保持 MSC 在扩增过程中的质量和活性。代谢不平衡可能造成细胞应激、细胞凋亡加速和细胞质量下降，进而可能影响其治疗效力。利用搅拌釜式生物反应器在微载体上培养 MSC，可以提高表面积 / 体积比并形成可控微环境，为成功扩增代谢活跃的 MSC 提供适宜条件。

在本研究中，我们使用由 DASbox® 迷你平行生物反应器系统控制的六个独立 BioBLU® 0.3c 一次性生物反应罐体测试

人脂肪间充质干细胞 (hADSC) 在微载体上的扩增情况。培养 5 天后，各罐体产生的 hADSC 数量均达到 $1.4-1.9 \times 10^8$ ，且各罐体之间的细胞生长重现性极高，培养结束时平均扩增 28 倍。不同罐体间葡萄糖消耗量与乳酸分泌量保持一致。培养 5 天后，平均葡萄糖消耗量为 1.8-2.2 克 / 升，与之相对应的平均乳酸分泌量为 1.1-1.7 克 / 升。在整个扩增过程中，葡萄糖持续地转化为乳酸，平均转化率 67%，证实 hADSC 具有糖酵解表型。此外，培养基中谷氨酰胺和谷氨酸等其他营养物质的变化在六个罐体间也具有重现性，表明细胞生长情况一致。

我们发现，在罐体中扩增 5 天后，细胞内关键代谢物的浓度以及线粒体和磷酸戊糖途径脱氢酶的活性都略高于用于接种的细胞。代谢物浓度和酶活性提高可能是受我们在扩增过程中观察到的增殖和生长速度加快的影响。

引言

基于自体 and 异体脐带间充质干细胞的 MSC 疗法现已成为再生医学领域的一种有效治疗方法 (1)。MSC 在细胞疗法中具有重要的一席之地，因为 MSC 可以调节免疫系统、促进组织修复、减少炎症发生和分泌生长因子，可用于治疗多种疾病 (2,3)。

[ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov) 上已完成或正在进行中的 hMSC 临床试验超过 1400 项，涵盖多个治疗领域（超过 14 个）。据报道，一项典型的细胞疗法临床试验需要 600 亿个 hMSC 细胞，且其需求量还将不断增长 (5)。因此，要充分发挥细胞疗法的潜能，就必须确立能够大量生产优质 hMSC 且具有成本效益的标准生产方案。

2D MSC 培养与 3D 搅拌釜式生物反应器培养是两种不同的生长和扩增方法 (6,7)。2D 培养虽然易于设置，但扩增能力有限，且需耗费大量人力。3D 搅拌釜式生物反应器则是在三维环境中培养细胞，并通过持续搅拌确保细胞和营养物质均匀分布。利用 3D 生物反应器培养的 MSC 通常表现出更大的增殖和扩增潜力。搅拌釜式生物反应器可以实现规模扩展，加之微载体有助于提高表面积/体积比，因此细胞产率更高 (8,9)。不仅如此，搅拌釜式生物反应器还可以更好地模拟体内微环境，这对保持细胞特性十分重要。

hMSC 要想具有治疗效果，就必须能够自我更新并适应体内微环境，而这些过程都受到细胞代谢状态的高度调节 (10)。与其他所有细胞一样，MSC 也需要能量才能进行各种细胞过程，包括自我更新、增殖、分化和免疫调节功能。能量主要通过糖酵解和氧化磷酸化 (OXPHOS) 产生三磷酸腺苷 (ATP) 的方式产生。MSC 的代谢状态，尤其是糖酵解与 OXPHOS 之间的平衡，对保持干细胞的干性和未分化状态十分重要 (11)。

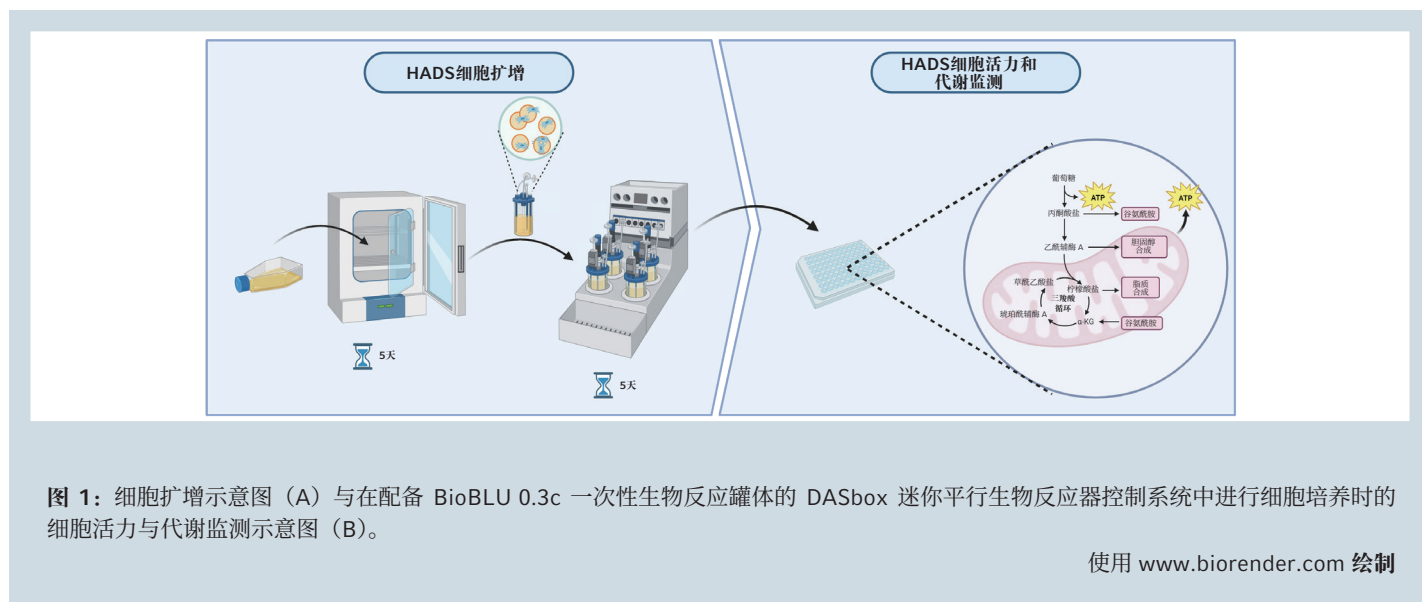
在扩增的早期阶段，MSC 依靠糖酵解产生能量。这种转变有助于维持 MSC 的干细胞状态，抑制自然分化，促进细胞健康，并延缓细胞衰老。为优化 MSC 在生物反应器中的扩增过程，必须监测和控制代谢环境，确保培养条件有利于细胞生长和保持所需的细胞特性。这需要我们对营养供给、氧气水平、pH 值和废物清除等参数进行微调，才能促进 MSC 代谢，获得理想的细胞产率和质量 (12,13)。

在本研究中，我们分析了人脂肪间充质干细胞 (hADSC) 在六个独立的一次性生物反应罐中的扩增情况，并利用活力和代谢读数来描述 hADSC 的代谢特征。不同生物反应罐中的营养消耗和代谢产物分泌率一致，证实扩增情况也保持一致。细胞在扩增过程中保持了较高的糖酵解速率，测量未发现关键代谢途径发生显著转变。

材料与方法

在 BioBLU 0.3c 一次性生物反应罐体中利用微载体培养 hADSC

直接在 RoosterNourish™-MSC-CC 培养基 (RoosterBio®, SU-022) 中解冻人脂肪间充质干细胞 (hADSC) (Lonza, PT-5006)，每 500 毫升添加 10 毫升增强剂 (RoosterBio®, SU-016)，采用二维培养方式 (T75 CellBIND 摇瓶, Corning, 3290) 培养一代 (5 天)。细胞培养采用 CellXpert® C170i 培养箱 (Eppendorf, 6731)，温度 37°C，潮湿环境，含 5% 二氧化碳。将细胞转移到罐体时，先对细胞进行胰蛋白酶处理 (0.025% 胰蛋白酶 -EDTA 和胰蛋白酶中和溶液, Lonza, CC-5012 和 CC-5002)，并使用 Vi-CELL™ 自动细胞计数仪 (Beckman Coulter, Vi-Cell XR 12) 进行计数。将总计 6×10^6 的 hADSC (2.4×10^4 细胞 / 毫升) 与 3.4 克 Synthemax II 低密微载体 (Corning, 3781) 混合，使细胞 / 珠粒比达到 3.7，然后在配备 BioBLU 0.3c 一次性生物反应罐体 (Eppendorf, 1386100000) 的 DASbox 迷你平行生物反应器控制系统中添加 250 毫升 RoosterNourish_MSC-CC 培养基进行悬浮培养。为提高初始细胞贴壁率，不得在最初 4 小时内搅拌细胞悬浮液和微载体。4 小时后搅拌速度设为 80 rpm。培养温度设为 37°C，溶氧 (DO) 水平设为 40%。通过往罐体顶部自动添加 CO₂ 和 NaOH (1N)，将生长培养基的 pH 值控制在 7.2。第三天，向每个罐体中各添加 5 毫升 RoosterReplenish™-MSC-XF 培养基 (RoosterBio, SU-023)，为细胞提供更多生长因子。在六个独立的 BioBLU 0.3c 一次性生物反应罐体中共计培养 5 天 (图 1A)。



生物反应罐取样

为分析细胞生长和代谢特征 (图 1B), 将一个 10 毫升无菌注射器连接至鲁尔锁取样口, 然后每日从每个罐体中无菌提取 6.5 毫升细胞悬浮液。收集到的样品按以下各节所述进行分析。

微载体去除

通过胰蛋白酶化处理从微载体上分离 hADSC, 具体方法如下。从每个 BioBLU 罐体中各取 5 毫升培养物, 静置 5 分钟, 待微载体沉淀。接着去除培养基上清, 用不含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的磷酸盐缓冲盐水 (PBS, Gibco, 14190-094) 清洗微载体。再次静置 5 分钟让微载体沉淀, 去除 PBS 上清, 添加 2.5 毫升 0.025% 胰蛋白酶-EDTA 溶液。然后将细胞在 38°C 下培养 8 分钟, 同时使用 Eppendorf Thermomixer 恒温混匀仪 (Eppendorf, 5382000.015) 以 500 rpm 进行混匀。在培养的第 4 天和第 5 天, 由于细胞聚集增多, 因此需要进行二次胰蛋白酶消化处理, 以确保细胞与微载体完全分离。用胰蛋白酶消化孵育细胞后, 添加 5 毫升胰蛋白酶中和溶液。然后用细胞滤网 (Fisher Scientific, 10282631) 过滤细胞, 使其与微载体分离。之后用 2 毫升 PBS 冲洗样品管, 并将其穿过细胞滤网, 确保收获所有细胞。收集到的细胞用 Eppendorf 5810R 离心机 (Eppendorf, 5811000010) 在 $200 \times g$ 离心力下离心 5 分钟, 最后重悬于 5 毫升新鲜培养基中。

细胞活力与增殖

细胞与微载体分离后, 每天使用 Vi-CELL™ 自动细胞计数仪评估细胞增殖情况。

对于细胞活力, 使用细胞渗透性荧光染料 Calcein AM (Invitrogen™, C3099) 对细胞进行染色, 然后在 Evos™ FL Auto 2 显微镜 (Invitrogen) 下观察。简言之, 就是在 24 孔板中加入 500 微升细胞培养物, 再加入 1 微升 Calcein AM 荧光染料。然后在 37°C 、5% CO_2 (CellXpert C170i) 条件下培养 30 分钟, 再用荧光显微镜观察已染色细胞。

使用 CellTiter-Glo® 3D 细胞活力发光检测法 (Promega, G9683) 测量细胞活力时, 样品制备方法与使用 Vi-CELL™ 自动细胞计数仪时相同, 分析方法遵照制造商说明。简单来说, 就是先将 50 微升制备好的样品转移到 96 孔板中, 然后向样品和 ATP 标准曲线试剂中加入已预热至室温的 50 微升 CellTiter-Glo 3D 试剂。混合 5 分钟并在室温下培养 25 分钟后, 使用 GloMax® Discover 微孔板读数仪 (Promega, GM300) 读取荧光信号。最后根据样品板上测定的 ATP 标准曲线计算每个样品的 ATP 水平。

细胞外代谢物水平

按照生物反应罐取样的步骤说明，在指定时间点采集样品。使用 Eppendorf 5810R 离心机将 1 毫升样品以 200 x g 的离心力离心 5 分钟。离心后，去除培养基以检测代谢物。部分样品立即用于测量葡萄糖和乳酸，其余样品在 -20°C 下冷冻保存。立即使用 YSI 2900 生化分析仪 (YSI, 2900D) 搭配 Glucose-Glo™ (Promega, J6022) 和 Lactate-Glo™ 生物发光法试剂盒 (Promega, J5022)，按照制造商说明测量葡萄糖和乳酸。采用生物发光法测量葡萄糖和乳酸时，样品分别被稀释 2,000 倍和 200 倍。

检测谷氨酰胺和谷氨酸时，先将冷冻培养基样品解冻，再用 PBS 稀释 200 倍，将代谢物浓度维持在检测试剂盒的线性范围内，然后用 Glutamine/ Glutamate-Glo™ 生物发光法试剂盒 (Promega, J8022) 进行检测。使用 RoosterNourish™-MSC-CC 培养基确定代谢物的起始浓度，并在代谢物定量检测中纳入具有代表性的标准品。所有检测均按照制造商说明利用 96 孔板进行。

细胞内代谢物水平

进行细胞内代谢物检测时，分别在罐体接种前的第 0 天和罐体培养后的第 5 天采集样品。按照上文所述方法分离细胞和微载体，并以 0.9×10^6 细胞 / 毫升的密度重悬于 PBS 中。加入二分之一体积的 0.3N 盐酸溶液裂解细胞，再将细胞裂解液在 -20°C 下冷冻保存。

对细胞裂解液进行检测，检测其中含有的乳酸 (Promega, J5022)、苹果酸 (Promega, JE9200)、谷氨酰胺和谷氨酸 (Promega, J8022)。检测前，根据制造商说明调节每份样品的 pH 值。检测采用 384 孔低容量孔板进行，每孔 3,000 个细胞。所有检测均按照制造商说明进行。

脱氢酶活性

样品于第 0 天和第 5 天采集，微载体按照上文所述方法去除。使用 PBS 清洗样品两次，再重悬于储存缓冲液 (200mM Tris-HCl, pH 7.3, 10% 甘油, 1% BSA)，以保留酶活性，然后在 -20°C 下冷冻保存直至检测。使用 Dehydrogenase-Glo™ 脱氢酶检测系统 (Promega, J9020) 进行检测，每孔 500 个细胞。

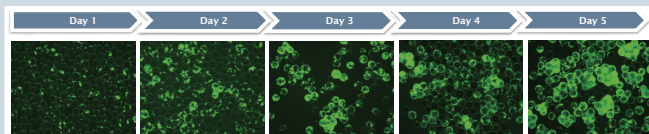


图 2: 通过绿色细胞渗透性染料 (Calcein-AM) 对细胞染色，每日监测 Corning® Syn- themax II 微载体上 hADSC 的细胞生长和活性。图像显示了罐体内具有代表性的培养区域每天的生长情况。

分别使用苹果酸 (Sigma, M7397)、D- 异柠檬酸 (Sigma, 56790) 和 6- 磷酸葡萄糖酸 (Sigma, P7877) 作为对应脱氢酶的底物。按照制造商说明中的建议，使用 200μM 脱氢酶底物和二核苷酸制备每种脱氢酶检测试剂。每 15 分钟检测一次荧光信号，共计检测 90 分钟，确保信号在线性范围内。每种脱氢酶的活性检测信号在 60 分钟内保持线性，具体如图 8 所示。

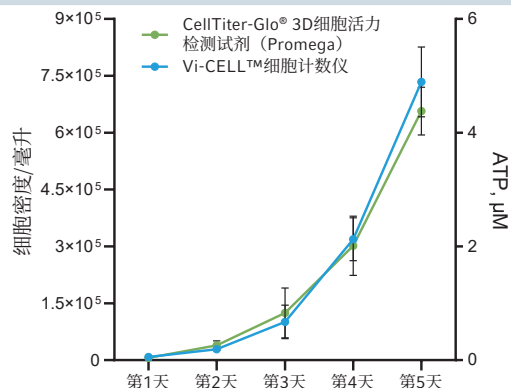


图 3: 使用由 DASbox 迷你平行生物反应器控制系统控制的 BioBLU 0.3c 一次性生物反应罐培养 hADSC 时，5 天扩增期内细胞增殖曲线和第 3 代 (P3) hADSC 细胞的 ATP 含量。数据代表六个罐体的平均值 (n=6)。

引言

使用 BioBLU 0.3c 一次性生物反应罐体扩增 hADSC 细胞

实验开始时，先将 hADSC 在 T75 摇瓶中培养 5 天，使其达到一定数量，适合在生物反应罐中进行培养。随后将细胞以 2.4×10^4 活细胞 / 毫升 (6.0×10^6 活细胞 / 罐体) 的密度接种到 6 个搅拌釜式一次性生物反应罐体中，同时使用 Synthemax II 低密度微载体作为基质支撑。在利用生物反应罐进行为期 5 天的 hADSC 细胞扩增期间，细胞活力染色结果表明，细胞成功附着于微载体且分布均匀 (图 2)。

扩增结束时 (第 5 天)，细胞数量平均增长 28.3 倍，细胞密度达到 7.34×10^5 活细胞 / 毫升 (1.7×10^8 活细胞 / 罐体)，最终平均存活率大于 97 % (图 3)。细胞生长数据表明，所有六个罐体之间具有很强的重现性，在第 5 天培养结束时，每个罐体的细胞数达到了 $1.4 - 1.9 \times 10^8$ 。重要的是，每个罐体在 5 天内产生的细胞数量均符合单次治疗剂量要求 ($0.35 - 3.5 \times 10^8$ hMSC/ 剂) (14)。

细胞活力同样使用 CellTiter- Glo® 3D 细胞活力检测试剂盒进行测定。CellTiter-Glo 检测试剂盒是一种匀相测定法，可以通过定量检测培养物中的 ATP 含量测定活细胞数量，检测到 ATP 即代表检测到代谢活跃细胞。该试剂盒专门与生物样品配套使用，会产生荧光信息，信号强度与 ATP 含量呈正比。如图 3 所示，随着时间的推移，ATP 含量直接与培养物中的细胞数量呈正比。

营养消耗与代谢产物分泌

监测培养基中的营养物质浓度并将其维持在适当水平十分重要，有助于维持细胞内正常的能量代谢、控制营养供应和调节操作条件以优化生物工艺。

本次实验使用 YSI 2900 生化分析仪和代谢物检生物发光测法来监测六个独立罐体中 hADSC 生长期间的葡萄糖消耗和乳酸分泌率，同时采用 Glutamine/Glutamate-Glo™ 生物发光法检测试剂盒测定培养基中的谷氨酰胺和谷氨酸。

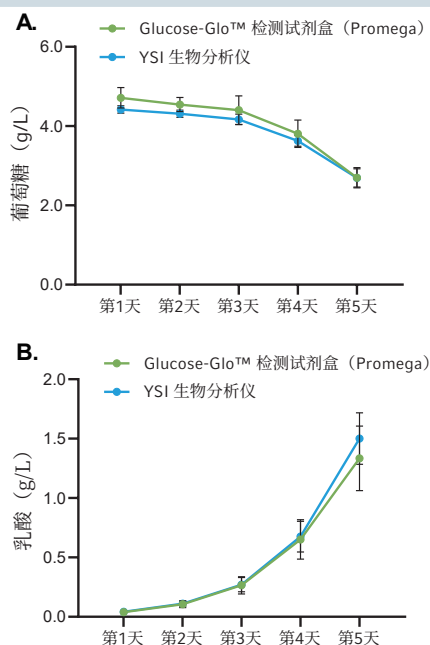


图 4：使用由 DASbox 迷你平行生物反应器控制系统控制的 BioBLU 0.3c 一次性生物反应罐体培养 hADSC 时，5 天内葡萄糖消耗曲线 (A) 和乳酸分泌曲线 (B)。数据代表六个罐体的平均值 (n=6)。

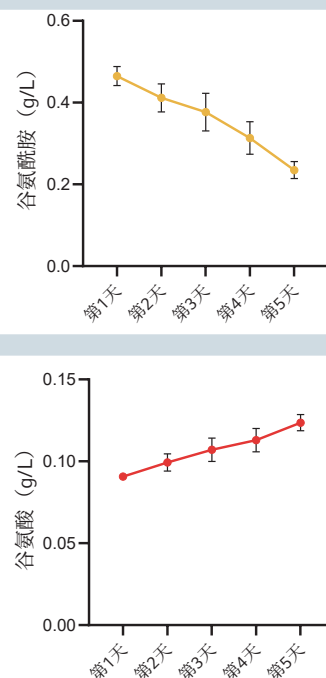


图 5：使用由 DASbox 迷你平行生物反应器控制系统控制的 BioBLU 0.3c 一次性生物反应罐体培养 hADSC 时，5 天内谷氨酰胺消耗曲线 (A) 和谷氨酸分泌曲线 (B)。数据代表六个罐体的平均值 (n=6)。

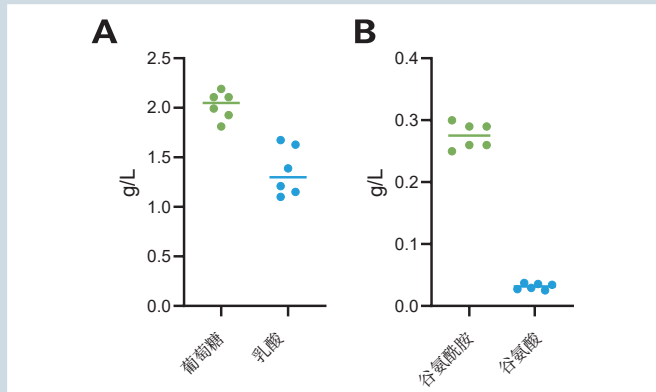


图 6: hADSC 生长和增殖过程中细胞外代谢物水平。培养基中被消耗的代谢物 (绿色) 或分泌入培养基中的代谢物 (蓝色)。同时检测 RoosterNourish™-MSC-CC 培养基与培养基样品, 以测定起始代谢物浓度。数据代表六个罐体的平均值 (n=6)。

图 4 表明, hADSC 在生物反应罐中进行扩增的五天期间, 培养基中的葡萄糖持续减少, 而乳酸则随之增加。同时使用生物分析仪和代谢物生物发光测定法测量葡萄糖和乳酸水平, 发现两者的变化非常吻合, 表明六个独立罐体中的营养消耗情况一致。

谷氨酰胺是细胞培养基中的另一种重要成分, 既可作为能量来源, 又可作为合成前体, 用于合成细胞生长和分裂所需的各种

重要生物分子, 包括核苷酸、氨基酸和谷胱甘肽。细胞通常需要谷氨酰胺为这些分子提供必要的组成成分, 以支持其生长和分裂。如图 5A 所示, 在 hADSC 持续生长过程中, 谷氨酰胺不断减少, 而谷氨酸则较慢增加。第 5 天, 不断生长的细胞共消耗了培养基中 50% 以上的谷氨酰胺。谷氨酰胺消耗量高但谷氨酸分泌量低, 符合 hADSC 快速增殖对合成代谢的高要求。与乳酸和葡萄糖结果一样, 不同罐体之间的营养消耗和代谢产物分泌率均可重现。

在图 6 中, 我们比较了在 hADSC 五天培养过程中葡萄糖、乳酸、谷氨酰胺和谷氨酸的平均消耗和平均分泌量。在 6 个独立罐体中, 葡萄糖消耗量从 1.8 克 / 升到 2.1 克 / 升不等, 平均消耗量为 2.02 克 / 升; 乳酸分泌量从 1.1 克 / 升到 1.6 克 / 升不等, 平均分泌量为 1.35 克 / 升。培养 5 天后, 消耗的葡萄糖中有 67% 转化为乳酸, 表明 hADSC 始终在进行有氧糖酵解。谷氨酰胺的消耗量从 0.21 克 / 升到 0.26 克 / 升不等, 平均消耗量为 0.24 克 / 升, 谷氨酸的分泌量从 0.025 克 / 升到 0.04 克 / 升不等, 平均分泌量为 0.03 克 / 升。这些数据清楚地表明, 不同罐体之间的营养消耗和代谢产物分泌率一致, 一致的细胞生长情况也证实了这一点, 具体如上图所示。

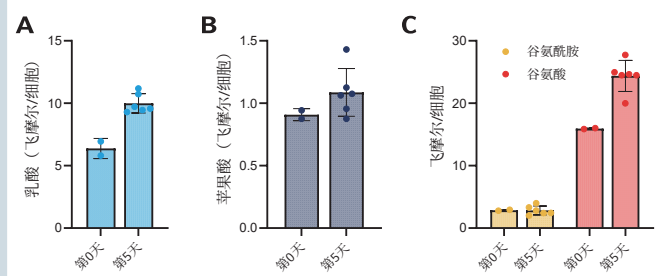


图 7: 细胞内代谢物水平。细胞于第 5 天与微载体分离并与第 0 天进行对比。检测采用 384 孔低容量孔板进行, 每孔 3,000 个细胞。使用 Promega 生物荧光法检测了乳酸 (A)、苹果酸 (B) 和谷氨酰胺 / 谷氨酸 (C) 含量。数据代表六个罐体的平均值 (n=6)。

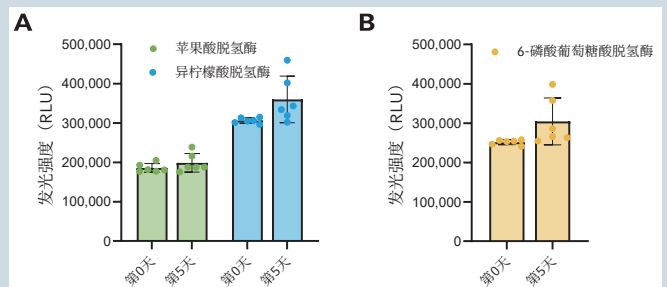


图 8: hADSC 中内源性脱氢酶的活性。对不同代谢途径的两种脱氢酶进行了 500 细胞 / 孔检测。分别是三羧酸循环中的苹果酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶 (A), 以及磷酸戊糖途径中的 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶 (B)。所示相对发光强度 (RLU) 是与对照脱氢酶检测试剂共同培养 60 分钟后的检测结果。数据代表六个罐体的平均值 (n=6)。

细胞内代谢物水平

细胞内代谢物分析是一种有用的工具，可以确定生长细胞的代谢活动，了解其营养利用和代谢废物产生情况。例如，糖酵解中间产物增多表明糖酵解活动增强，而柠檬酸循环中间产物增多则表明氧化代谢活跃。代谢物水平异常可能预示着细胞应激、受损或功能障碍。本次实验分析了细胞内乳酸、谷氨酰胺、谷氨酸和苹果酸的含量，并以此作为三个关键代谢途径的读数：糖酵解、谷氨酰胺酵解和三羧酸循环。我们在生物反应罐培养前的第 0 天和生物反应罐培养后的第 5 天，采集细胞样品进行了细胞内代谢物测量。谷氨酸含量 (>20 飞摩尔 / 细胞) 明显高于谷氨酰胺 (<3 飞摩尔 / 细胞)，与快速增殖细胞中谷氨酰胺将迅速转化为谷氨酸的情况一致，符合预期。与第 0 天相比，第 5 天样品细胞内的乳酸和谷氨酸浓度略高，而苹果酸浓度没有明显变化。在 6 个罐体中，细胞内所有四种受测代谢物的含量都十分接近，表明细胞生长具有可重现性和稳健性。

脱氢酶活性

脱氢酶是多个代谢途径的关键组成部分，对维持细胞内能源均衡、氧化还原态和代谢过程至关重要。测量脱氢酶 (DH) 的表达水平或活性常被用于获取更多有关细胞代谢状况的信息。本实验使用 6- 磷酸葡萄糖酸脱氢酶来评估磷酸戊糖途径的活性，使用苹果酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶检测线粒体三羧酸循环的活性。在为期 5 天的培养过程中，6 个罐体中异柠檬酸脱氢酶和 6- 磷酸葡萄糖酸脱氢酶的相对酶活性均较为接近，仅在第 5 天比第 0 天略有升高。酶活性数据与细胞活力和代谢物分析结果一致，证实细胞生长情况一致，新陈代谢水平略有升高，后者可能是由于生长环境受控和营养供给增加，导致细胞增殖率提高所致。

结论

近年来，人们越来越重视为临床（前）研究提供高质量、可行和功能齐全的间充质干细胞的必要性 (1, 3, 15)。在关键考量因素中，在整个分离、培养扩增和收获阶段保持细胞内稳态是维持 MSC 疗法所要求的细胞质量的关键因素 (3, 16)。在生物反应罐内进行体外扩增时，当前挑战在于如何在优化控制主要生物工艺过程参数的同时，精密监测细胞代谢状态。

在本研究中，我们证实可以利用配备 BioBLU 0.3c 一次性生物反应罐体的 DASbox 迷你平行生物反应器控制系统在微载体上生产高质量 hADSC。细胞活力和代谢指标评估为全面评估整个过程中的细胞扩增和代谢状态提供了途径。每个罐体均在不到一周的培养时间内就生产出数量可观的细胞，可以满足不同临床应用单次治疗的剂量要求。除各罐体之间的生长情况具有高度重现性外，对整个过程中细胞代谢情况的监测也证实，在细胞快速增殖的过程中，其糖酵解特性得以保留，关键代谢途径也未发生显著变化。

有兴趣了解更多的生物工艺信息？

我们的《Bioprocess Spotlight》季刊能让您了解与您的细胞培养生物工艺相关的最新教育资料、活动和产品资讯。



参考文献

1. Margiana R. et al., "Clinical application of mesenchymal stem cell in regenerative medicine: a narrative review" Stem Cell Research & Therapy, 2022, 13:366.
2. Abbaszadeh H. et al., "Regenerative potential of Warthon's jelly-derived mesenchymal stem cells: A new horizon of stem cell therapy" Journal of Cellular Physiology 2020, 235:12; 9230-9240.
3. Yuan X. et al., "Strategies for improving adipose-derived stem cells for tissue regeneration" Burns & Trauma 2022, 10, tkac028.
4. Rodriguez-Fuentes D.E. et al., "Mesenchymal stem cells current clinical applications: A systematic review" 2021, 52:93-101.
5. Olson TR. et al., "Peak MSC – are we there yet?" Front Med. 5:178. (5)
6. Martin C. et al., "Revisiting MSC expansion from critical quality attributes to critical culture process parameters" Process Biochem. 2017, 59, 231-243. (6)
7. Kusuma GD. et al., Effect of 2D and 3D culture microenvironments on mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles potencies. Front. Cell Dev. Biol. 10:819726. (6)
8. Egger D. et al., "Physiologic isolation and expansion of human mesenchymal stem/stromal cells for manufacturing of cell-based therapy products" Engineering in life Sciences 2021, 27;22(3-4):361-372. (8)
9. Lin Y.M. „Expansion in microcarriers-spinner cultures improves the chondrogenic potential of human early mesenchymal stromal cells" Cytotherapy 2026, 18;740-753. (7)
10. Salazar-Noratto G.E. et al., "Understanding and leveraging cell metabolism to enhance mesenchymal stem cell transplantation survival in tissue engineering and regenerative medicine applications. Stem Cells. 2020;38:22-33.
11. Folmes C.D.L. et al., "Metabolic plasticity in stem cell homeostasis and differentiation." Cell Stem Cell. 2012;11(5):596-606.
12. Zhu H. et al., "Inducible metabolic adaptation promotes mesenchymal stem cell therapy for ischemia." Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2014; 34:870-876.
13. Yuan X. et al., "Metabolism in human mesenchymal stromal cells: a missing link between hMSC biomanufacturing and therapy." Front. Immunol. 2019;10:977.
14. Jossen V. et al., "Theoretical and practical issues that are relevant when scaling up hMSC microcarrier production processes" Stem Cell Intl. 2016:4760414
15. Tsai AC. et al., "Influence of microenvironment on mesenchymal stem cell therapeutic potency: from planar culture to microcarriers", Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2020, 24;8;640.
16. Yin J. et al., "Manufacturing of primed mesenchymal stromal cells for therapy" Nat. Biomed.End. 2019 2:90-104.

Eppendorf 产品订购信息

产品描述	订购号
DASbox® 迷你平行生物反应器控制系统, 用于细胞培养, 4 罐体系统, 适用一次性生物反应罐体	76DX04CCSU
BioBLU® 0.3c 一次性生物反应罐体, 用于细胞培养, 开放管路, 1 片斜叶叶轮, 无 pH 传感器, 无菌, 4 件	1386 100 000
DASware® control 控制软件, 含计算机、操作系统和许可证, 适用于 DASbox® 4 罐体迷你平行生物反应器控制系统	7860 016 7
CellXpert® 培养箱, 内门, 4 个分内门, 左侧把手	6731010055
Eppendorf ThermoMixer® C 恒温混匀仪, 基础款, 不含加热块	5382 000 015

Promega 产品订购信息

产品描述	试剂盒规格*	货号
CellTiter-Glo® 3D 细胞活力检测试剂	10 ml	G9681
Glucose-Glo™ 检测试剂	5ml	J6021
Lactate-Glo™ 检测试剂	5ml	J5021
Malate-Glo™ 检测试剂	5ml	JE9200
Glutamine/Glutamate-Glo™ 检测试剂	5 ml	J8021
Dehydrogenase-Glo™ 检测系统	5 ml	J9020
GloMax® Discover 酶标仪	n/a	GM300

*另有其他规格可供选购。请访问: <https://www.promega.com/products/cell-health-assays/>

Eppendorf 中国

服务热线: 400 885 6070

电子邮件: marketinfo@eppendorf.cn

www.eppendorf.com/bioprocess



Beckman Coulter® and Vi-CELL® are registered trademarks of Beckman Coulter, Inc., USA. Synthemax® and Corning® are registered trademarks of Corning Inc., USA. RoosterBio® is a registered trademark of RoosterBio Inc., USA. RoosterNourish™ and RoosterReplenish™ are trademarks of RoosterBio Inc., USA. CellTiter-Glo® and GloMax® are registered trademarks of Promega inc., USA. Glucose-Glo™, Lactate-Glo™, and Glutamine/Glutamate-Glo™ are trademarks of Promega inc., USA. Eppendorf®, the Eppendorf Brand Design, BioBLU®, CellXpert®, and ThermoMixer® are registered trademarks of Eppendorf SE, Germany. DASbox® and DASware® is a registered trademark of DASGIP Information and Process Technology GmbH, Germany. All rights reserved, including graphics and images. Copyright © 2023 by Eppendorf SE.

Eppendorf SE reserves the right to modify its products and services at any time. This application note is subject to change without notice. Although prepared to ensure accuracy, Eppendorf SE assumes no liability for errors, or for any damages resulting from the application or use of this information. Viewing the application note alone cannot as such provide for or replace reading and respecting the current version of the operating manual.