



FiberCell Systems Has Unlocked
**The Real Power of
Hollow Fiber Cell Culture**



3D 中空纤维细胞培养系统

The More *In-Vivo* Like Cell Culture System

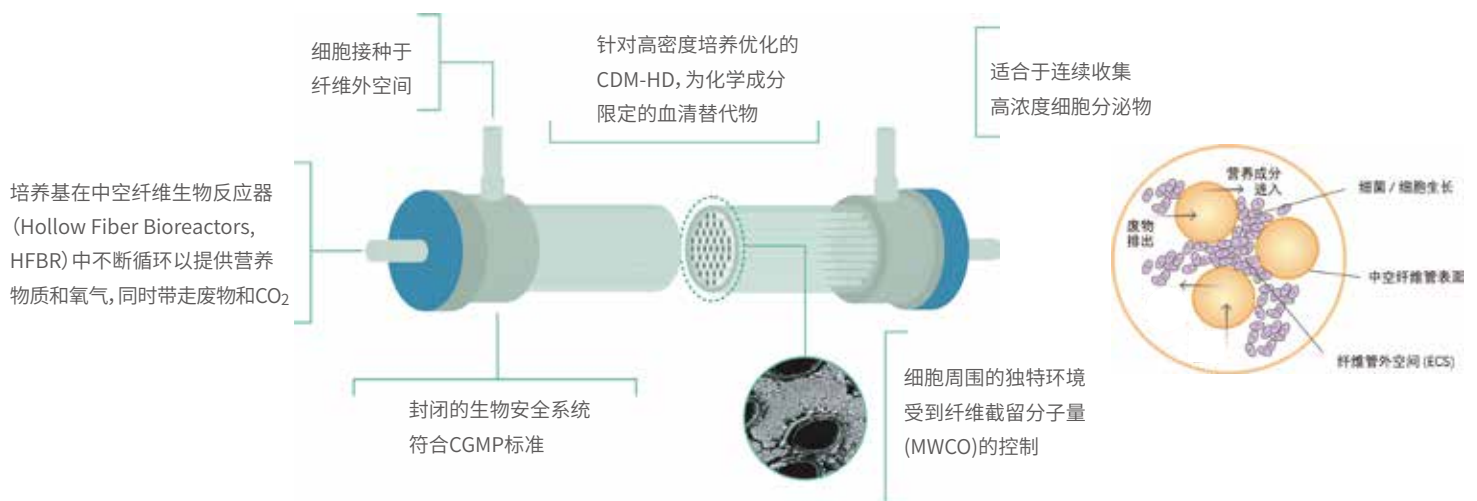
FiberCell 公司介绍

美国FiberCell Systems公司由John Cadwell于2000年3月创立。FiberCell系统采用全新的、先进的高过滤速率的纤维,具有更快速物质交换,适合更高密度的细胞/细菌培养,为细胞/细菌提供更类似体内的生长环境。

FiberCell公司在欧洲设有制造工厂,并与马里兰大学合作拥有实验室,FiberCell公司还是美国宇航局(NASA)国际空间站细胞培养系统的供应商。

FiberCell 工作原理

- 双向泵、培养筒、培养基储液瓶通过导管连接构成一个连续流动的体系。
- 中空纤维作用类似于微血管,单个纤维直径大约200 μm ,并可选择不同通透率的纤维。
- 培养基流经中空纤维内部,而细胞培养在纤维内或外空间;纤维膜在培养的细胞与流动的培养基之间形成一个半透膜的屏障,乳酸、葡萄糖等小分子可以自由穿透。
- 细胞生长在中空纤维外时,分泌的产物如外泌体、单克隆抗体与蛋白质等大分子聚集在小体积的ECS (Extracellular Space, 纤维管外空间)中,浓度可高于平板或滚瓶培养10-100倍。



FiberCell中空纤维细胞培养密度可达到 $1 \times 10^8/\text{mL}$, 高密度细胞培养具有独特的优势:

- 降低细胞对血清的要求
- 易于适应无血清培养
- 增加细胞分泌产物浓度10-100倍
- 在高密度生长条件下,细胞拥有更类似于体内细胞生长方式 (more *in-vivo* like)
- 不需传代,提高细胞活率,减少细胞凋亡
- 单位时间可处理大量细胞 (高达 10^{11})

FiberCell 系统特点:

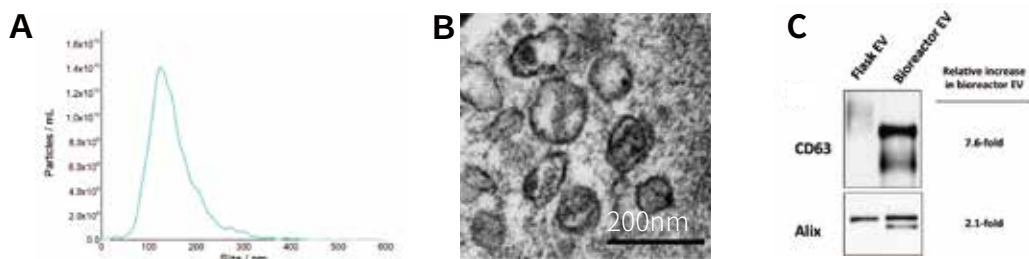
- 细胞附着在多孔支架上减缓细胞分裂
- 可连续培养数月或以上
- 改善细胞功能及所分泌的产物,如蛋白质折叠和翻译后修饰
- 建立稳态、更类似于体内生长条件
- 渗透出废弃物与细胞抑制因子
- 封闭系统提高生物安全
- 适用于悬浮细胞与贴壁细胞培养
- 操作简便,每次换液仅需15分钟



外泌体富集 (Exosome Harvesting)

中空纤维细胞培养系统是干细胞与293细胞等生产外泌体的理想反应器。由于外泌体不能透过纤维,可收获高浓度的外泌体,并且细胞碎片显著降低。外泌体还能长时间持续收获,保持活性不变。

使用培养瓶生产外泌体时,需加入血清,因而存在外源外泌体与蛋白杂质。而细胞在FiberCell系统中培养时,循环培养基中的外泌体不会进入细胞生长的空间,并且该系统也易适用于无血清环境,或使用血清替代物 (CDM-HD, FiberCell) 培养,从而得到高纯度与高浓度的外泌体,中型培养筒的单次收获相当于200-250个T175 培养瓶。

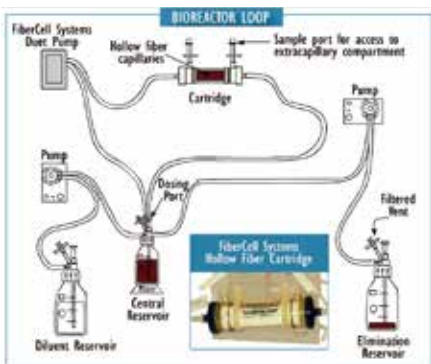


中空纤维富集的外泌体,纯化后以NTA分析(A)和透射电镜(B)验证其物理特性。相较于2D平板培养,中空纤维可以更有效富集外泌体(C)。

培养瓶及C2011中型培养筒培养MSC, 收获外泌体比较			
	收获体积 (mL)	总外泌体蛋白 (mg)	总外泌体颗粒 (10^{10})
培养筒 (培养4周, 收获6次)	120	14.45	326.9
130个T225	4000	0.9	1.6



体外PK/PD模型 (In Vitro Toxicology)



体外PK/PD模型是指借助体外装置来模拟药物在体内的药代动力学过程和药效动力学研究方法。与传统的抗菌药物药效学研究方法相比,该模型能够直接体现体内抗菌药物动态变化过程中与细菌或细胞的相互作用,且不受实验动物的限制。

FiberCell系统可以实现单一药物或同时两种药物的体外PK/PD模型,更精确地监控剂量和代谢状况。

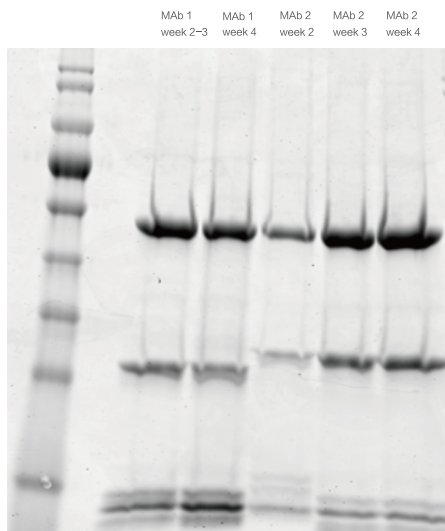
欧洲药品管理局 (EMA) 已批准中空纤维感染模型用于体外毒性测试,得到的抗生素药物数据可以直接用于临床申报。

FiberCell VS 静态方法的优势	FiberCell VS 单一变量模型的优势	FiberCell VS 动物模型的优势
● 可以持续监控不同剂量 ● 能够揭示耐药机制 ● 数据更接近临床	● 维持细菌负荷 ● 生物安全性 ● 可模拟吸收和消除曲线 ● 可模拟快速半衰期	● 可以测试高负荷细菌和病毒 ● 吸收、排泄和代谢曲线更接近人体内半衰期 ● 可以模拟极端剂量 ● 可以监控药物联合疗法 ● 封闭的生物安全体系 ● 可以更精确地监控剂量和代谢状况



单抗生产 (Monoclonal Antibody Production)

杂交瘤细胞会分泌转化生长因子- β (TGF- β)，它是一种会抑制杂交瘤细胞生长的细胞因子。功能型TGF- β 的分子量大约是 27 kD，截留分子量大的培养筒允许TGF- β 扩散通过，所以由于浓度差异，TGF- β 会自然进入循环培养基，可以减小或者消除对细胞的抑制效果；而杂交瘤细胞分泌的抗体则在ECS (纤维管外空间) 堆积，并可达到很高的浓度。



产物未经纯化的电泳图

细胞附着在多孔支架上，类似于体内生长方式。在中空纤维系统内，细胞可以维持活力和分泌代谢物数月或以上。中空纤维系统内的细胞不需要传代，因为一定比例的细胞会处于静止期，即它们会分泌蛋白但停止分裂。例如，有在FiberCell系统内培养杂交瘤细胞生产单抗一年以上，另外有连续培养胶质瘤细胞近两年。

MAb 1: 体积60 mL, 浓度2.8 mg/mL, 共168 mg, 3周消耗9 L培养基

MAb 2: 体积70 mL, 浓度2.3 mg/mL, 共159 mg, 3周消耗11 L培养基

采用FiberCell系统生产单克隆抗体的优点：

- #C2011每2天可生产单抗10-50 mg, 消耗1 L培养基
- 单次收获体积15-20 mL, 抗体浓度: 0.5-5 mg/mL
- 内毒素负荷低于腹水培养10倍
- 易于适应血清替代物 (CDM-HD) 及无血清培养
- 容易得到嵌合的人源化和其他非鼠源单抗

产品推荐：



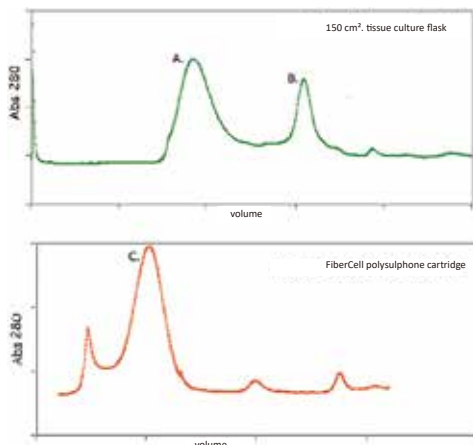
CDM-HD (Chemically Defined Medium for High Density Culture, 高密度细胞培养血清替代物) 是专为高密度细胞培养研发和优化，适用于FiberCell中空纤维细胞培养系统。

CDM-HD化学成分限定，不含蛋白，无批间差，是可长期储存的干粉。

利用CDM-HD培养细胞，可收获更高纯度的细胞分泌物 (如单抗、重组蛋白及外泌体等)。



重组蛋白生产 (Recombinant Protein Production)



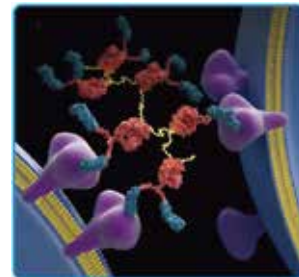
重组CHO细胞分泌的六聚体蛋白hexameric IgG1在平板中不容易得到。如在T150 Flask培养, 只能得到60%的六聚体, 大约有 40%的蛋白无法正确折叠, 而呈四聚体的构型。

在FiberCell系统中大约有95%的蛋白以正确折叠的六聚体(由6个带有3个IgA尾的IgG1亚基组成)形式存在的, 几乎不表达四聚体。总体积4 L的体系10周可以生产475 mg蛋白。

峰 A : T150 Flask中培养, 得到60%的六聚体
峰 B : T150 Flask中培养, 得到40%的四聚体
峰 C : FiberCell中培养, 得到95%的六聚体

150 cm² Flask (上图) 与FiberCell系统生产 (下图)
人重组IgG六聚体比较

- 每天可收获重组蛋白1-10 mg
- 蛋白浓度提高100倍
- 降低血清需求利于纯化
- 高浓度小体积, 后续处理简单
- 优化的细胞培养条件可提高蛋白质组装、折叠与糖基化



Journal of Biological Chemistry 9/20/2007
Data courtesy of Dr. Jim Arthos, Bethesda, MD



细胞共培养 (Cell Co-culture)

微孔纤维特性和可控的细胞外基质为细胞共培养提供了一个理想环境。

如右图所示, 在纤维内培养内皮细胞的同时, 可以在纤维外培养血管平滑肌细胞; 实验表明, 当流动速率变化时, 平滑肌蛋白结构和内皮素受体表达会受到直接的影响, 原因是由内皮细胞分泌的某些能够穿过纤维的物质可以使平滑肌发生改变。

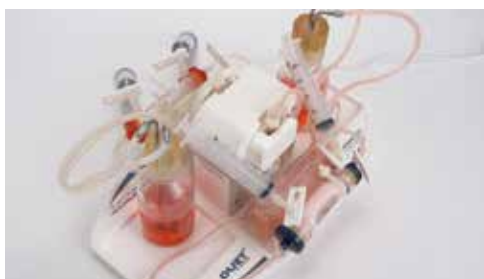
也可以在纤维外同时培养两种细胞, 如胸腺上皮细胞与胸腺纤维原细胞共同培养来形成胸腺结节。密度足够高的两种细胞培养在足够紧密的空间以观察相互作用。



与血管平滑肌共同培养的牛主动脉内皮细胞

产品介绍 (Products)

FiberCell系统双向泵(Duet Pump)



货号: P3202

FiberCell系统双向泵可同时带动两个中空纤维培养筒，体积小，可调节流速，适合放在任何标准大小的培养箱中。

双向泵尺寸: 25 cm×42 cm×21 cm (W x L x H) , 重量: 4.3 kg。

小型培养筒(Small Cartridges)



货号: C2025

0.1 μm 孔径达到最大交换率，纤维膜表面积共80 cm^2 ，纤维材质为聚偏氟乙烯(PVDF)，利于蛋白质、细胞因子和抗体的附着。适合于在剪切力下培养内皮细胞。

货号: C2025D

截留分子量为20 kD，聚砜(polysulfone)材质，纤维膜表面积共450 cm^2 ，可用于放大实验前的预实验。

中型培养筒(Medium Cartridges)



货号: C2008

纤维为聚砜材质，截留分子量为5 kD，适合于贴壁和悬浮细胞系，如CHO，HeLa和293培养，可支持多达 10^9 个细胞生长，每天能产生100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 或更多的重组蛋白。

货号: C2011

纤维为聚砜材质，截留分子量为20 kD，可用于收集单抗或较大重组蛋白，可支持多达 10^9 个细胞生长，每天产生1-20 mg重组蛋白，2天产生5-50 mg单抗。C2011也是做PK/PD和外泌体富集的首选培养筒。

货号: C7011

孔径为0.03 μm 的亲水性PVDF，具有100%细菌截留率，同时允许药物通过纤维快速交换，专为PK/PD研究设计，因为PK/PD中测试的药物化合物可能有较强的疏水性，需要高浓度的溶剂溶解，或者与聚砜纤维产生较强的非特异性结合。培养筒仅保留一圈气体交换管(0.65 m)减少系统死体积。纤维用甘油浸润，无需预洗。

货号: C5011

与C2011材质相同，但气体交换管长度是C2011的2倍，专为杂交瘤放大培养设计，生产力提高2倍，可收获抗体浓度是C2011的2倍。

大型培养筒(Large Cartridges)



货号: C2003/C2018

纤维为聚砜材质, C2003截留分子量为5 kD, 用于生产25-100 kD之间的重组蛋白, C2018截留分子量为20 kD, 可用于生产较大重组蛋白(100 kD或更大), 纤维膜表面积共1.2 m², 能支持多达 5×10^{10} 个细胞生长, 可收获ECS体积为60 mL, 大约5-20 mg重组蛋白。

培养筒型号

培养筒型号	规格	纤维表面积	纤维材质	包装密度	ESC容积	MWCO 50%	细胞最大培养量	气体交换管长度
C2025	Small	80 cm ²	PVDF	39%	3.9 mL	0.1 μm	10 ⁸	1.5 m
C2025D	Small	450 cm ²	low flux PS	50%	3.2 mL	20 kD	10 ⁸	0.65 m
C2008	Medium	4000 cm ²	low flux PS	50%	20 mL	5 kD	10 ⁹	4 m
C2011	Medium	4000 cm ²	high flux PS	50%	20 mL	20 kD	10 ⁹	4 m
C3008	Medium	2000 cm ²	cellulosic	30%	14 mL	5 kD	10 ⁹	3 m
C5011	Medium	4000 cm ²	high flux PS	50%	20 mL	20 kD	2×10^9	6.1 m
C7011	Medium	880 cm ²	hydrophilic PVDF	50%	24 mL	0.03 μm	N/A	0.65 m
C2003	Large	1.2 m ²	low flux PS	50%	70 mL	5 kD	5×10^{10}	6.1 m
C2018	Large	1.2 m ²	high flux PS	50%	70 mL	20 kD	5×10^{10}	6.1 m

储液瓶盖 (Reservoir Caps)

图片	货号	名称	描述
	A1005	33 mm储液瓶盖	适用于外径33 mm储液瓶, 可反复高压灭菌。
	A1006	38 mm储液瓶盖	适用于外径38 mm培养基瓶, 可反复高压灭菌。
	A1007	38 mm PK/PD储液瓶盖	五端口储液瓶盖, 专用于体外毒理学研究, 可以将药物和稀释剂导入中央室, 同时维持恒定的体积。

Applications & References

外泌体

- Gobin J, Muradia G, Mehic J, *et al.* Hollow-fiber bioreactor production of extracellular vesicles from human bone marrow mesenchymal stromal cells yields nanovesicles that mirrors the immuno-modulatory antigenic signature of the producer cell. *Stem Cell Res Ther.* 2021, 12(1): 127.
- Cao J, Wang B, Tang T, *et al.* Three-dimensional culture of MSCs produces exosomes with improved yield and enhanced therapeutic efficacy for cisplatin-induced acute kidney injury. *Stem Cell Res Ther.* 2020, 11(1): 206.
- Watson DC, Bayik D, Srivatsan A, *et al.* Efficient production and enhanced tumor delivery of engineered extracellular vesicles. *Biomaterials.* 2016, 105: 195-205.

PK/PD

- Boorgula GD, Jakkula LUMR, Gumbo T, *et al.* Comparison of Rifamycins for Efficacy Against Mycobacterium avium Complex and Resistance Emergence in the Hollow Fiber Model System. *Front Pharmacol.* 2021, 12: 645264.
- Mallikaarjun S, Chapagain ML, Sasaki T, *et al.* Cumulative Fraction of Response for Once- and Twice-Daily Delamanid in Patients with Pulmonary Multidrug-Resistant Tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020, 65(1): e01207-20.
- Drusano GL. From lead optimization to NDA approval for a new antimicrobial: Use of pre-clinical effect models and pharmacokinetic/pharmacodynamic mathematical modeling. *Bioorg Med Chem.* 2016, 24(24): 6401-6408.

单抗

- Cui X, Cao Z, Wang S, *et al.* Immunization of Rabbits with Recombinant Human Cytomegalovirus Trimeric versus Monomeric gH/gL Protein Elicits Markedly Higher Titers of Antibody and Neutralization Activity. *Int J Mol Sci.* 2019, 20(13): 3158.
- Liu, CH., Liu, YX., Kumari, M., *et al.* Multivariate analysis of metabolic parameters and optimization of antibody production using high cell density hybridoma in hollow fiber bioreactors. *Biotechnology Letters.* 2019.
- Krawczyk A, Arndt MA, Grosse-Hovest L, *et al.* Overcoming drug-resistant herpes simplex virus (HSV) infection by a humanized antibody. *PNAS.* 2013, 110(17): 6760-5.

重组蛋白

- DeOca, K. B., Moorman, C. D., Garcia, B. L., *et al.* Low-Zone IL-2 Signaling: Fusion Proteins Containing Linked CD25 and IL-2 Domains Sustain Tolerogenic Vaccination in vivo and Promote Dominance of FOXP3+ Tregs in vitro. *Frontiers in Immunology.* 2020, 11.
- Moorman, C. D., Curtis, A. D., Bastian, A. G., *et al.* A GMCSF-Neuroantigen Tolerogenic Vaccine Elicits Systemic Lymphocytosis of CD4+ CD25high FOXP3+ Regulatory T Cells in Myelin-Specific TCR Transgenic Mice Contingent Upon Low-Efficiency T Cell Antigen Receptor Recognition. *Frontiers in Immunology.* 2019, 9.
- Jayanthi S, Koppolu Bp, Smith SG, *et al.* Efficient production and purification of recombinant human interleukin-12 (IL-12) overexpressed in mammalian cells without affinity tag. *Protein Expr Purif.* 2014, 102: 76-84.

细胞共培养

- Ebrahim AS, Carion TW, Strand E, *et al.* Application of a Flow-Based Hollow-Fiber Co-Culture System to Study Cellular Influences under Hyperglycemic Conditions. *Sci Rep.* 2019, 9(1): 3771.
- Pasikowska M, Walsby E, Apollonio B, *et al.* Phenotype and immune function of lymph node and peripheral blood CLL cells are linked to transendothelial migration. *Blood.* 2016, 128(4): 563-73.
- Usuludin SB, Cao X, Lim M. Co-culture of stromal and erythroleukemia cells in a perfused hollow fiber bioreactor system as an in vitro bone marrow model for myeloid leukemia. *Biotechnol Bioeng.* 2012, 109(5): 1248-58.

><IP BioMed
道 鹏 生 物

电话: +86-21-58785545

邮箱: info@xpbioimed.com

网址: www.xpbioimed.com

地址: 上海市浦东新区祖冲之路1505弄80号1幢3楼



关注道鹏生物公众号
了解更多最新资讯

V 3.1