

## 第三章 动物细胞工程制药

### 3.5 大规模细胞培养技术

#### 一、课程目标

##### 1) 知识学习目标

掌握动物细胞大规模培养的方法和操作方式

#### 二、课程组织

**导入:** 同学们, 大家好。**动物细胞工程制药**是大规模工业化的生产, 在上一节我们学习了动物细胞培养的必须条件和基本操作, 今天我们继续来学习实际生产中, 如何进行大规模动物细胞的培养。

本节我们将主要从两个部分进行介绍。一是大规模细胞培养的方法, 再一个是大规模细胞培养的操作方式。

##### 知识点 1 讲解: 大规模细胞培养方法

先来看一下大规模细胞培养的方法。动物细胞的大规模培养主要可分为悬浮培养、贴壁培养和贴壁悬浮培养。第一个是**悬浮培养**。悬浮培养是指细胞在反应器中自由悬浮生长的过程, 是细菌发酵基础上改进的主要用于非贴壁依赖型细胞培养, 如杂交瘤细胞等, 也适用于兼性贴壁细胞。该培养方式的优势在于传代不需要胰酶消化, 使细胞免于传代时酶类等的化学及机械损伤; 可随时取样检测细胞的状态; 传质和传氧效果好, 培养规模容易放大。缺点是体积小, 较难采用灌流培养。

**第二是贴壁培养**。贴壁细胞是指细胞附着于底物表面生长的细胞, 在传代时需要经消化液消化后再分种。贴壁培养适用于所有的贴壁细胞, 也适用于兼性贴壁细胞的培养。该培养方式的优势在于适用的细胞种类多, 较容易采用灌流培养, 达到高密度细胞。缺点是操作比较复杂, 需要合适的贴附材料和足够的面积, 培养条件不易均一, 传质和传氧较差。思考题说到贴壁培养, 那么请同学们回忆一下贴壁细胞传代培养的过程是什么? 和悬浮细胞相比较的区别又是什么?

下面第三是**贴壁-悬浮培养**。贴壁-悬浮细胞培养也被称为是假悬浮培养。在无菌条件下将细胞定位在特定的支持物表面或限制在特定的液相空间, 模拟机体内生理状态下生存的基本条件使细胞在反应器内进行生长增殖的体外培养方法。这种培养方式将两种培养方式结合,

优势互补，形成了一种更适合与工业化大规模生产的培养方式。在固定化培养中有**微载体培养**和**巨载体培养**两种方式。

**知识点 2 讲解：**大规模细胞培养的操作方式

第二部分的内容是**大规模细胞培养**的操作方式。选择动物细胞大规模培养工艺首先要考虑的就是选择产品的操作方式。操作方式的选择决定该工艺的产品质量、产量、成本以及工艺稳定性等。操作方式的选择需对生产工艺进行全面考虑，包括细胞株生长方式、产品的稳定性以及是否利于下游的分离纯化等。动物细胞大规模培养操作的生物反应器操作模式在实际生产中主要有 3 种：**批式操作**、**流加式操作**和**灌流式操作**。一是**批式操作**。批式操作是动物细胞培养早期采用的培养方式，也是其他培养方式的基础。即将细胞种子液无菌介入生物反应器内进行培养，在培养过程中不断进行营养物的流加，随着细胞的生长变化，产物不断地积累，最后一次性收取细胞、产物及培养液。这种操作方式的优点是操作简单、易于控制、周期短、污染风险低。缺点是产量低。

二是**流加式操作**。流加操作是在批式操作基础上，初始流入一定量的培养液至反应器内，在培养过程中随着营养物质的消耗，流加浓缩的营养物或培养基，从而使细胞持续生长。通常在细胞进入衰退期或衰退后期终止反应，分离细胞和细胞碎片，浓缩、纯化目标蛋白。该方式的优点是操作简便，生产效率高，可长期进行生产，反复收获产品，而且可使细胞密度和产品产量一直保持在较高的水平。缺点是培养过程中大量代谢产物造成营养利用下降，细胞生长抑制或死亡。

三是**灌流式操作**。当细胞和培养基一起加入反应器后，在细胞增长和产物形成过程中，不断地将培养基流出，同时不断地补充新鲜培养基。但细胞留在反应器内，使细胞处于一种不断的营养状态。灌流式操作的优势是细胞可处在较稳定的良好的环境中，营养条件好，有害代谢废物浓度低；可极大地提高细胞密度，从而极大地提高了产品产量；培养基的比消耗率较低，加之产量质量的提高，生产成本明显降低。缺点是消耗培养基多且利用率低；操作周期长，污染概率大；长期培养过程中细胞表达产品的稳定性也需要随时监测。

总结：本节内容主要涉及大规模细胞培养的三种方法即**悬浮培养**、**贴壁培养**和**贴壁-悬浮培养**。我们要着重了解悬浮培养和贴壁培养的区别。另外，本节我们还介绍了三种大规模细胞培养的操作方式-批式操作、流加式操作和灌流式操作。同学们，今天的可就上到这里，谢谢大家，我们下节课见。