

造血细胞体外悬浮培养和生物反应器开发

迟占有 夏泉鸣 康自珍 谭文松* 戴干策

(华东理工大学生物反应器国家重点实验室,上海 200237)

摘 要 为解决造血细胞的静态培养中由浓度梯度引起的培养不稳定、环境不均一、难放大等问题,首先采用转瓶对脐血单个核细胞进行了悬浮培养研究,结果表明,悬浮培养中总细胞、集落和 CD34⁺ 细胞的扩增都高于静态的方瓶培养。在测试了所用材料生物相容性的基础上,开发了可以控制溶氧和 pH 的生物反应器,并将其应用到造血细胞的批培养中,结果表明反应器的培养环境均一,可实现较高密度的培养,而且总细胞、集落和 CD34⁺ 细胞的扩增都优于静态培养。大规模的反应器培养有利于解决临床应用中细胞数量不足的问题。

关键词 造血细胞,悬浮培养,生物反应器

中图分类号 Q813.1 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2003)05-0587-06

造血干细胞的体外培养是在模拟体内造血系统发生和发育的基础上,在体外培养系统中,通过添加造血细胞因子和各类营养成分来实现造血干细胞在体外的增殖和发育,生产可用于医疗的各类造血细胞的技术。近来该技术在细胞的培养条件、培养系统和培养后细胞的应用方面都取得了很大进展^[1,2]。

造血细胞培养研究中普遍应用的是静态培养系统,如孔板和方瓶,静态培养中由于培养环境不均一,因此培养基中 pH、溶氧和代谢物都存在浓度梯度^[3]。这些浓度梯度会由于所培养细胞的初始条件如接种密度、细胞类型分布、细胞本身扩增潜力不同而在各批之间造成很大的差异。而且静态培养不能实现在线监控,采集数据烦琐。另外静态培养系统能提供的表面积有限,不适合进行大规模培养。搅拌式生物反应器能提供均一的环境,在取样、数据采集和培养条件控制等方面都优于静态培养。而且搅拌式反应器具结构简单、易于放大、细胞收获方便、细胞培养环境易于控制、检测和优化等特点,因此目前已经为很多种动物细胞的培养所采用^[3]。

本文利用转瓶培养和扩增了脐血单个核细胞,对造血细胞的搅拌式悬浮培养作了初步的研究,在此基础上,针对造血细胞的培养专门开发了搅拌式生物反应器系统,并成功地用于脐血造血细胞的批培养中。

1 材料和方法

1.1 脐血(CB)的采集和单个核细胞(MNC)的分离

脐血由上海国际和平妇幼保健院提供。要求供者是身体健康、发育良好的非高龄产妇。脐血经淋巴细胞分离液(Ficoll)梯度离心后,收集单个核细胞,并以 IMDM 培养基洗涤 2 次。

1.2 脐血单个核细胞的体外培养

体外培养基本培养基用 IMDM(Gibco 公司),使用时添加 20% 胎牛血清(FBS),以及 SCF、IL-3 和 IL-6 三种细胞因子,其浓度分别为:50 ng/mL、20 ng/mL 和 20 ng/mL。

孔板、方瓶和转瓶置于 37℃、5% CO₂、湿度饱和的二氧化碳培养箱中进行细胞培养。24 孔板培养中,细胞以所需密度接种,每孔装液 1 mL。方瓶培养采用 Nunc 公司 T-25 型方瓶,装液 7 mL。转瓶(Technique 公司)标准装液体积为 100 mL,实验起始时装液 25 mL,培养至 7 d 后,加入相同体积的含细胞因子和血清的新鲜培养基,之后每 2 天换液 50%。转瓶搅拌转速为 20 r/min。

1.3 反应器材料的生物相容性测试

所测试的材料为:不锈钢 S316L、S304,玻璃,聚四氟乙烯(PTFE),硅橡胶(Silicon rubber),不锈钢丝网(Wire mesh),橡胶(Rubber)。所测试材料剪成小

块 经高压灭菌后加入孔板细胞悬液中进行直接接 触培养。培养 10d 后取细胞用于计数和集落分析。 实验对照组为不加任何材料的孔板培养,孔板本身 的材料是聚乙 烯(PS),其表面经过组织培养化处理, 能成功地支持造血细胞生长。

1.4 生物反应器的生物相容性实验

将培养基在高压灭菌过的罐中浸泡 2d,取出后 用该培养基在孔板中培养造血细胞,以新鲜培养基 为对照,考察两种培养所得的细胞总数和 CFU-GM。

1.5 造血细胞生物反应器的批培养

用方法 1.2 中所述的培养基悬浮脐血单个核细 胞,以 2×10^6 cells/mL 接种至 T-175 方瓶(Nunc)中, 培养 4d 后以 0.4×10^6 cells/mL 接种至反应器和孔板 (作为静态对照)中。其中反应器中 pH 控制在 7.15,溶氧为饱和和溶解空气的 25%,搅拌转速为 30 r/min。

1.6 造血细胞的集落检测

CFU-GM 的检测体系为 IMDM 培养基,添加 20%胎牛血清,4mmol/L 谷氨酰胺(Sigma),含 0.9% 甲基纤维素(4000cp, Sigma),以及人重组造血生长因 子 SCF、IL-3、IL-6、GM-CSF、G-CSF,其浓度分别为 50 ng/mL、20 ng/mL、20 ng/mL、20 ng/mL 和 20ng/mL。

BFU-E 的检测培养体系与 CFU-GM 基本相同, 所添加细胞因子为 SCF、IL-3、IL-6、EPO,其浓度分别 为 50 ng/mL、20 ng/mL、20 ng/mL、2 u/mL,并添加 1% 牛血清白蛋白(BSA)。

CFU-Mk 的检测采用血浆块法,细胞以 1×10^5 cells/mL 的接种密度接种于 24 孔板中,每孔加 $50\mu\text{L}$ 脐血浆, $50\mu\text{L}$ 3.4g/L 的 CaCl_2 溶液,加入含有 TPO (20ng/mL)、IL-3(10ng/mL)、IL-6(10ng/mL)的 α 培养 基(GIBCO 公司),混匀后静置凝固。培养 10~12d 后,用 1:3 的甲醇/丙酮溶液原位脱水,并固定 30min,然后按次序加入 1% BSA、鼠抗人 CD41 抗体、 生物素标记的羊抗鼠 IgG 抗体、抗生物素蛋白-碱性 磷酸酯酶复合物,加入后都要作用一定时间,然后用

0.05mol/L Tris/NaCl 缓冲液淋洗 3 遍,再加入其它试 剂)染色后在 $40\times$ 目镜下观测呈红色的集落。

1.7 流式细胞分析

流式细胞仪分析中所用抗体为 Pharmingen 公司 产品。其操作为: 1.0×10^6 未扩增或扩增后的细胞 用 PBS 洗两遍,重悬后分配到 1.5mL 管中离心,加 PE 偶联的小鼠抗人 CD34 单抗和 FITC 偶联的小鼠 抗人 CD45 单抗各 $10\mu\text{L}$, 4°C 孵育 30min。PBS 洗 2 遍,离心后,每管加 1mL FACS 保存液,标记细胞用流 式细胞仪(BD 公司)分析,结果用 Lysis II 软件处理。

2 结 果

2.1 造血细胞的转瓶和方瓶培养

2.1.1 总细胞的扩增 脐血单个核细胞以 1.0×10^6 cells/mL 接种于转瓶和方瓶中,培养 14d。图 1 表示 了转瓶和方瓶中的扩增结果。其中扩增倍数指培养 后的细胞总数与接种时的细胞总数的比值(其中假 设换液移出的细胞与留在瓶中的细胞一样地仍在培 养)。在培养的前 7 天,转瓶和方瓶中细胞生长都较 慢,转瓶和方瓶中的细胞总数差别也不大,而 7d 后 差异开始逐渐变大,培养至 14d 时,转瓶培养中细胞 总数的扩增倍数显著高于方瓶。

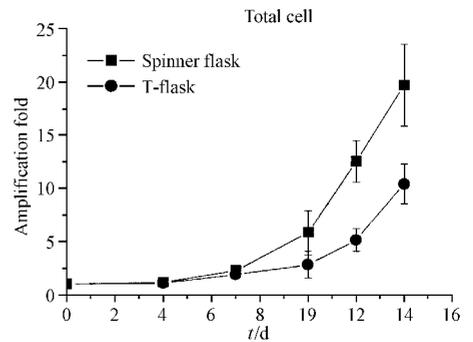


图 1 总细胞的扩增 (n = 3)

Fig.1 Amplification of total cell(n = 3)

2.1.2 CFU-GM、CFU-Mk、BFU-E 的扩增:图 2 表示 了各类集落形成细胞的扩增情况,这代表了各系

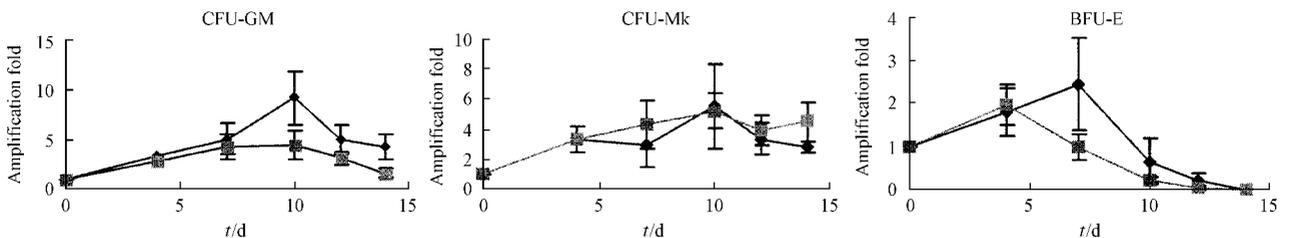


图 2 CFU-GM、CFU-Mk 和 BFU-E 的扩增 (n = 3)

Fig.2 Amplification of CFu-GM ,CFu-Mk and BFU-E(n = 3)

祖细胞的扩增。

CFU-GM 是粒系和巨噬细胞系祖细胞,如图 2 所示,CFU-GM 的扩增在第 10 天时扩增倍数达到最大,而后下降,这说明 10d 后所培养细胞中 CFU-GM 数逐渐减少,逐渐分化为成熟细胞。

CFU-Mk 为巨核系祖细胞,而巨核细胞是血小板的前体细胞,因此,CFU-Mk 的含量决定了所培养细胞的血小板形成能力。CFU-Mk 的扩增倍数在第 10 天时达到最大,但转瓶与方瓶的差异不显著。

BFU-E 为红系祖细胞,EPO 对红系细胞的扩增和发育至关重要,但考虑到 EPO 会促进造血细胞的分化,本培养中没有添加 EPO,因此,BFU-E 的扩增倍数不高。方瓶中 BFU-E 的扩增倍数在第 5 天时最大,而转瓶中在 7d 时最大,在此之后 BFU-E 的扩增倍数迅速下降,说明培养中红系祖细胞分化较快。

2.1.3 CD34⁺ 细胞的扩增: CD34 是造血干、祖细胞的共同标志^[4],因此,CD34⁺ 细胞的扩增代表着干细胞和祖细胞的扩增。本实验考察了单个核细胞培养中 CD34⁺ 细胞数的扩增情况。其 CD34⁺ 细胞数由流式细胞分析中 CD34⁺ 细胞的含量乘以总细胞数得到,其扩增情况如表 1 所示。第 10 天与第 7 天相比,CD34⁺ 细胞的含量有所下降,说明干、祖细胞在 7d 后已经开始分化。

表 1 CD34⁺ 细胞的扩增倍数 ($n = 3$)

Table 1 Amplification of CD34⁺ cells ($n = 3$)

| t/d | Spinner flask | T-flask |
|-----|---------------|-----------|
| 0 | 1.0 | 1.0 |
| 7 | 6.6 ± 2.9 | 5.5 ± 0.3 |
| 10 | 6.7 ± 4.0 | 4.4 ± 0.7 |

2.2 反应器材料的生物相容性测试

为确定何种材料可以用于反应器,对于候选的材料做了生物相容性测试。实验中将材料剪成小块,灭菌后置于孔板中与细胞混和培养,以不加任何测试材料的培养为对照。细胞接种密度为 0.4×10^6 cells/mL,培养至第 7 天时换液 50%,10d 时收获细胞计数和做集落分析。其结果如图 3 所示。

图中实验组与对照比率的计算公式为:

实验组/对照 = 实验组细胞密度(或集落数)/对照组细胞密度(或集落数)

由图可见,所用测试的材料中,S316L 最好,其培养结果跟对照相差不大,与对照的总细胞比率为 97%,CFU-GM 与对照比率为 94%。S304 的培养结果不如 S316L。玻璃、聚四氟乙烯和硅胶橡胶与对照的总细胞比率都在 80% 以上,CFU-GM 与对照的比率中,玻璃和聚四氟乙烯在 70% 以上,硅胶橡胶为 62%。

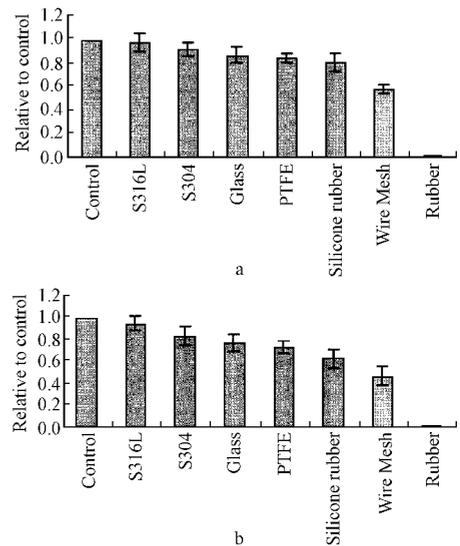


图 3 添加材料的培养总细胞 (a) 和 CFU-GM (b) 与对照的比率 ($n = 3$)

Fig.3 (a) Ratio of total cells relative to control (b) Ratio of CFU-GM relative to control

不锈钢丝网的性能则相对较差,其总细胞比率不能达到 60%,而 CFU-GM 则不足 50%。在添加了普通橡胶的培养中,细胞很快死亡而不能生长,说明橡胶对造血细胞有很强的毒性。

由此可见,S316L 和 S304 对造血细胞的生长影响较小,而且 S316L 优于 S304。玻璃、聚四氟乙烯和硅胶管材料对造血细胞的生长有一定影响,但基本能支持造血细胞的生长。不锈钢丝网对造血细胞生长的影响较大,因此,在造血细胞的灌注系统中,不便采用丝网截留细胞,可以考虑其它方法。橡胶对造血细胞有很强的毒性,因此,不能用于反应器中。根据所测试结果,S316L、玻璃、聚四氟乙烯被用于所开发的反应器中。

2.3 反应器的生物相容性实验

为检测最终开发完成的反应器中所应用的材料以及所用的电极等与细胞直接接触的材料是否渗析毒素到培养基中,我们做了用培养基在罐内浸泡后再用其培养细胞的实验。如果在浸泡过程中,罐中能与培养基接触到的材料或电极渗析毒素到培养基中,那么该培养基与新鲜培养基培养细胞的结果势必有所差别。结果如表 2 所示,实验组和对照组在总细胞和集落分析方面的结果只是稍有差别,这表明罐中所用的材料以及电极等能与培养基接触的材料没有毒素释放到培养基中。需要说明的是,CFU-GM 扩增倍数波动较大,这是因为,CFU-GM 的检测需要将培养的细胞再次接种至 24 孔板中进行培养

14d, 此过程受到一些不确定因素的影响, 导致检测结果本身波动较大。

表 2 罐中浸泡过的培养基与对照培养结果的比率 ($n = 3$)
Table 2 Compatibility of IMDM soaked in bioreactor ($n = 3$)

| | |
|---|------------------|
| Compatibility of total cell relative to control | (96 ± 5)% |
| Compatibility of CFU-GM relative to control | (94 ± 11)% |

因此, 依据材料的生物相容性来选择材料用于反应器, 并对开发的反应器做生物相容性实验, 解决了反应器的生物相容性问题。

2.4 造血细胞在生物反应器的批培养

对于开发出来的反应器, 通过脐血单个核细胞的批培养考察了该反应器的性能, 培养结果如图 4 所示。接种后细胞生长速度较慢, 在开始的 7d 中, 孔板与反应器中的生长情况大致相同, 其细胞密度相差不大。10d 后, 孔板中的细胞密度不再增加, 而反应器中还在继续生长, 直到 14d 过后才不再有明显生长。孔板中所达到最大细胞密度为 3.2×10^6 cells/mL, 而反应器中可达到的细胞密度为 4×10^6 cells/mL。实际上如果通过换液并将细胞返回反应器的方式, 造血细胞在反应器中的密度可达到 $(6 \sim 12) \times 10^6$ cells/mL^[6]。因此, 本实验中后期细胞密度不再增长的原因应该是营养物的耗尽而导致。

图 4 中 b 图为集落形成细胞 (CFC) 的扩增。在培养的前 10d, 虽然从总细胞来看, 反应器与孔板中的培养相差不大, 但其 CFC 的扩增倍数约为孔板的 2 倍。而且反应器中培养到 10d 后仍有各类集落 (包括 CFU-Mix、CFU-GM 和 BFU-E), 而孔板培养中在 4d 之后即只能检测到 CFU-GM。这说明反应器中培养所得到的集落原始程度比孔板中高, 细胞分化比孔板中慢, 即反应器更利于干细胞的维持。

CD34⁺ 细胞的扩增情况如图 5 所示, 接种后 4d CD34⁺ 细胞就有较大程度扩增, 而且此时孔板扩增高于反应器, 但此后孔板中 CD34⁺ 细胞扩增倍数不再有明显增加, 到 14d 时已经检测不到 CD34 细胞。而反应器中扩增逐渐增加, 在 14d 时达最大。

3 讨 论

造血细胞对剪切力很敏感, 这就需要培养中要维持较低的搅拌转速, 但同时必须保证细胞能有效地悬浮起来, 因此, 本实验转瓶转速采用 20r/min, 反应器转速为 30 r/min。

实验中发现, 造血细胞在转瓶中比在方瓶中需要更高的最低接种密度。在方瓶和孔板中, 细胞以 5×10^4 cells/mL 接种, 仍可成功地实现总细胞和集落

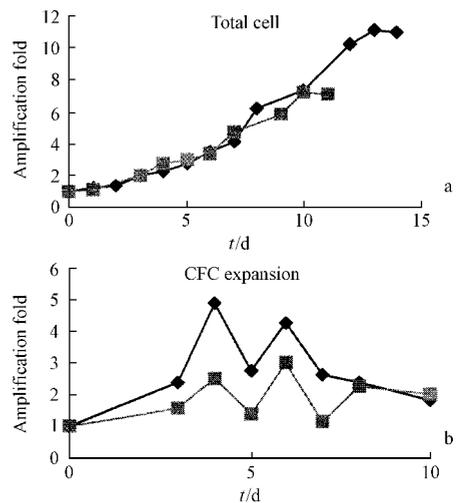


图 4 反应器中批培养的总细胞和 CFC 的扩增

Fig.4 Amplification of total cells and CFC in the batch culture in stirred tank bioreactor

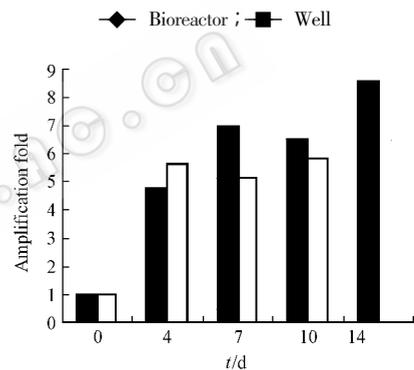


图 5 反应器中批培养的 CD34⁺ 细胞的扩增

Fig.5 Amplification of CD34⁺ cells in batch culture in bioreactor

的扩增, 但转瓶中这个数字为 2×10^5 cells/mL, 低于这个数字时, 细胞很难实现扩增。这是因为, 造血细胞体外培养中所维持的环境不能完全模拟体内造血组织中的微环境, 所以, 较高的细胞密度有利于细胞适应新的培养环境, 而在静态培养中, 细胞沉在瓶底, 维持了这样一个相对的高密度。细胞生长至较高的密度后, 由于传质较慢, 静态培养中的相对高密度造成了细胞营养供应的不充分和代谢物在细胞微环境的积累, 这不利于细胞的生长。而转瓶中, 由于搅拌使培养液中营养成分和细胞因子能有效与细胞接触, 并带走代谢物, 使细胞处于一个较好的微环境。因此, 转瓶中的扩增效果要显著高于方瓶, 特别是总细胞的扩增, 说明在细胞密度较高时, 悬浮培养确实优于静态的培养。

造血细胞对培养材料的要求非常严格, 我们初期的实验表明, 在用橡胶塞作盖子的转瓶和 Wheaton

公司的转瓶中,细胞不能生长,这在 Collins 等的实验中也曾被报道^[3]。Laluppa 等^[5]在无血清培养中对材料的研究结果表明,聚四氟乙烯、玻璃、不锈钢等对造血细胞的扩增都有一定影响。本实验采用的是 Techne 公司的转瓶,其搅拌装置为玻璃的搅拌棒,实验证明其具有良好的生物相容性。在反应器的开发中,我们首先对所使用的材料做了生物相容性测试,并据此选择了不锈钢 S316L、玻璃和聚四氟乙烯用于反应器。

溶氧和 pH 是造血细胞的体外培养中最重要的物理条件,必须进行严格控制,但在静态培养中由于存在浓度梯度,其细胞微环境中溶氧和 pH 很难检测和控制,而搅拌反应器则可以对溶氧和 pH 进行良好的控制。原来的研究表明,氧分压控制为 20% 时产生的成熟细胞和巨核细胞比 5% 时多,而氧分压为 5% 时产生的 BFU-E 和 CFU-MK 比 20% 时多^[7]。Mostafa 等^[8]考察了氧分压对巨核细胞(MK)扩增和分化的影响,结果表明 20% 氧分压促进了 MK 产生和分化,而 5% 氧分压促进了其原始祖细胞的扩增和维持,并抑制了分化。本实验中,在反应器中采用的溶氧水平为饱和溶解空气的 25%,即与 5% 氧分压空气的条件相同,而孔板培养与 20% 氧分压的条件相同。因此,反应器中所得的集落无论从质量和数量都优于孔板,这与以上研究结果是吻合的。pH 是造血细胞扩增和分化的有力调控因子。以前的研究发现,从祖细胞分化到成熟细胞的最适 pH 为 7.2 ~ 7.4,在此范围之外分化受到抑制^[9]。Hevehan 等^[10]考察 pH 对粒细胞系的影响表明,总细胞和 CFU-GM 的扩增在 pH 为 7.21 时最大,pH 7.37 时最小,两者相差 1.5 ~ 2.3 倍。这表明较低的 pH 更能促进原始粒细胞的扩增,而且分化到成熟细胞的速度更快。本实验中采用的 pH 为 7.15,这更适合于干细胞的扩增,而不是利于其分化成熟。实验中总细胞和 CFC 的扩增倍数比没有 pH 控制的孔板高,这应该部分归功于控制了合理的 pH。因此,由于采用了搅拌式培养,再加上培养中 pH 和溶氧被控制在较优越条件下,反应器中培养得到的细胞密度较高,细胞中能形成集落的干、祖细胞的数量和“质量”也都优于静态的孔板培养。

反应器培养有利于实现大规模培养,目前的实验用反应器中可培养得到 400mL 的细胞液,其中细胞密度可达 4×10^6 cells/mL。而且搅拌式反应器易于放大,在此 400mL 反应器基础上放大到临床规模的 1 ~ 10L 很容易实现,这就解决了造血细胞体外扩

增技术在临床应用上的细胞培养规模不足之问题。

与目前已经商品化的反应器相比,本文中开发的反应器具有生物相容性好、体积小的优点。商品化的反应器基本是根据建系的动物细胞如 CHO、杂交瘤等细胞的培养所设计,其材料与造血细胞的生物相容性难以保证,而且去验证这一问题也不现实。而本反应器所使用材料均进行过造血细胞生物相容性的测试,因此,不存在此问题。造血细胞的培养中,由于要添加各种细胞因子,其培养成本很高,在实验研究阶段,应尽量减小这方面的开支。因此,研究用的生物反应器体积应尽可能的小。目前商品化的反应器体积一般都在 2 L 以上,这对于造血细胞培养的研究来说显然太大。本反应器最小装液量为 400mL,能很好地在实验研究中节约成本,而且在进行临床应用时,可以进行放大。另外,该反应器不仅可以用于培养造血干、祖细胞,而且可用于造血干细胞的定向分化诱导或成熟血细胞的生产。

REFERENCES (参考文献)

- [1] Cabral J M S. *Ex vivo* expansion of hematopoietic stem cells in bioreactors (review). *Biotechnology Letters*, 2001, **23**: 741 - 751
- [2] McNiece I, Briddell R. *Ex vivo* expansion of hematopoietic progenitor cells and mature cells. *Experimental Hematology*, 2001, **29**: 3 - 11
- [3] Collins P C, Miller W M, Papoutsakis E T. Stirred culture of peripheral and cord blood hematopoietic cells offers advantages over traditional static systems for clinically relevant applications. *Biotechnology & Bioengineering*, 1998, **59**: 534 - 543
- [4] WU Z Z (吴祖泽), HE F C (贺福初), PEI X T (裴雪涛). Regulation of hematopoiesis (造血调控). Shanghai: Shanghai Medical University Press (上海医科大学出版社), 2000
- [5] Laluppa J A, McAdams T A, Papaoutsakis E T *et al.* Culture materials affect *ex vivo* expansion of hematopoietic progenitor cells. *Bio-medical Material Research*, 1997, **36**: 347 - 359
- [6] Collins P C, Nielsen L K, Patel S D *et al.* Characterization of hematopoietic cell expansion, oxygen uptake, and glycolysis in a controlled, stirred-tank bioreactor system. *Biotechnology Progress*, 1998, **14**: 466 - 472
- [7] McAdams T A, Papaoutsakis E T. Hematopoietic cell culture therapies (Part I): cell culture considerations. *Trends in Biotechnology*, 1996, **114**: 341 - 349
- [8] Mostafa S S, Papaoutsakis E T, Miller W M. Culture PO₂ alters megakaryocyte ploidy, apoptosis, cell expansion, and differentiation in a physiologically relevant way. *Blood*, 1998, **92** (suppl 1): Abstract # 1814
- [9] Laluppa J A, Papaoutsakis E T, Miller W M. Oxygen tension alters the effects of cytokines on the megakaryocyte, erythrocyte, and granulocyte lineages. *Experimental Hematology*, 1998, **26** (9): 835 - 843
- [10] Hevehan D L, Papaoutsakis E T, Miller W M. Culture PO₂ and pH modulate cytokine receptor expression, cell proliferation, and differentiation during *ex vivo* granulocyte-specific expansion. *Blood*, 1998, **92** (suppl. 1): Abstract # 1815

In vitro Suspension and Bioreactor Culture of Hematopoietic Cells

CHI Zhan-You XIA Quan-Ming KANG Zi-Zhen TAN Wen-Song* DAI Gan-Ce

(The State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract Stirred culture offers a number of advantages over static systems as it maintains a stable, homogeneous culture environment and is easy to scale-up. This paper focused on the development and application of stirred tank bioreactor to culture hematopoietic cells. Preliminary study of stirred culture of hematopoietic cells was carried out in cord blood mononuclear cells culture in spinner flask. The results showed that the amplification rates of total cell, CFU-GM and BFU-E, with the exception of CFU-Mk, were greater in spinner flask than T-flask. The number of total cells increased 20 fold after 14 days incubation in spinner flask. The amplification rates of CFU-GM, CFU-Mk and BFU-E reached maximum at 10th day, 10th day and 7th day respectively, and the maximal amplification rates were 9.2-fold, 5.5-fold and 2.4-fold respectively, whereas the rate of CD34⁺ cells in spinner flask was (6.7 ± 4.0)-fold at day 10. These results indicated that the stirred culture system is better than the static culture systems for hematopoietic cell proliferation. The biocompatibility of cord blood MNC to different types of materials used in bioreactors was also tested. The results showed that glass, stainless steel 316L and polytetrafluoroethylene (PTFE) supported the growth of hematopoietic cells well. A higher cell density was reached in stirred bioreactors with controlled pH and DO than static culture. These findings suggested that the controlled large-scale culture could be used to overcome the clinical shortage of hematopoietic cells.

Key words hematopoietic cell, stirred culture, bioreactor

Received: 02-24-2003

This work was supported by a Grant from the State "863" High Technology R&D Project of China (No. 102-12-08-01) and the Shanghai Modern Biology and Medicine Program (No. 004319003).

* Corresponding author. Tel 86-21-64253394; Fax 86-21-64250948; E-mail: wstan@ecust.edu.cn

《生物工程学报》第二届编委会名单

顾 问: 焦瑞身 中国科学院上海植物生理生态研究所 研究员

主 编: 杨胜利 中国科学院上海生物工程研究中心 院 士

副主编(以姓名拼音排序)

方荣祥 中国科学院微生物研究所 研究员

贺福初 军事医学科学院放射医学研究所 院 士

苏志国 中国科学院过程工程研究所 研究员

杨开宇 中国科学院微生物研究所 研究员

杨蕴刘 中国科学院上海植物生理生态研究所 研究员

编 委(以姓名拼音排序)

曹谊林 陈 坚 陈清轩 陈受宜 陈苏民 程 京 高友鹤

韩玉珉 贾继增 江 宁 李育阳 李载平 刘双江 马清钧

孟广震 强伯勤 司书毅 谭天伟 童光志 王 骏(香港)

王树青 王忆平 吴祥甫 谢 毅 杨克迁 杨 晓 姚 斌

张嗣良 张先恩 张智清 赵国屏 朱 祯

编 辑: 武 文 叶 军