

天然高分子细胞培养基质的研究进展

龙仕和^{1,3}, 李明生^{1,2}, 靳冬武^{1,2}, 马忠仁^{1,2}, 冯玉萍^{1,2*}

(1. 西北民族大学生物工程与技术国家民委重点实验室, 兰州 730030; 2. 甘肃省动物细胞工程技术研究中心, 兰州 730030; 3. 西北民族大学生命科学与工程学院, 兰州 730030)

摘要:天然高分子材料如壳聚糖、丝素蛋白和胶原蛋白等具有异体抗原性弱、生物相容性好、可生物降解且能促进细胞粘附、生长和增殖等优点。同人工合成高分子材料相比,天然高分子几乎不含有机溶剂和引发剂等物质,生物安全性高,是细胞培养基质的首选原材料。近年来,随着生物科技的发展,其新功能也不断被发现并受到学术界的广泛重视。本文综述了天然多糖类和天然蛋白质类高分子材料的理化性质及在细胞培养基质领域中的应用,对目前所存在的一些问题进行了描述并预测其发展动向。

关键词:天然高分子; 生物相容性; 细胞培养基质

随着生物技术的发展,动物细胞培养已从小规模单层培养到较大规模的转瓶或摇瓶培养,再上升为生物反应器培养,这历程看似简单,但随着培养规模的增大,许多新的问题也越来越明显。如目前生物医药领域所用的生产细胞多数是贴壁依赖性动物细胞,扩大培养除了对培养容器、培养基、温度、溶氧和 pH 等有精确的要求外,对支持细胞贴壁生长的表面即细胞培养基质原材料的要求也越来越高。细胞培养基质原材料主要源于天然、合成和半合成高分子材料。合成或半合成高分子材料具有强度高、易加工和可大规模生产的优点,但其生物相容性和降解性不及天然高分子材料。天然高分子材料生物相容性好,可降解,但批间差异大,强度低,资源有限;于是大量研究者逐渐把目光聚焦到对天然高分子材料修饰改性的研究^[1]。

近年来,天然高分子材料已成为细胞培养基质(如组织工程支架、微载体和薄膜等)构建的首选原材料。如何以天然高分子材料为基础制出综合性能优良的细胞培养基质已成为细胞工程领域研究的热点问题。

1 天然多糖类细胞培养基质

1.1 纤维素

纤维素(Cellulose)是自然界中最丰富的天然高分子,属于非动物源性,具有细胞相容性好,生物安全性高和可再生等优点。目前纤维素及其一些衍生物已被制成组织工程支架和微载体等用于细胞培养。Pooyan 等将纤维素纳米晶须(Cellulose nanowhiskers, CNWS)与醋酸甲酸纤维素制成复合支架,结果显示,少量的 CNWS 可增强复合支架的机械稳定性,有潜力被用作模拟人体血管天然细胞外基质^[2]。Rodriguez 等根据聚合液性质制出的醋酸纤维素纳米纤维支架无毒副作用,对哺乳动物细胞表现出良好的亲和性^[3]。Huang 等依据静电纺丝的原理制出了有利于细胞粘附生长的纤维素纳米纤维支架^[4]。另外,Reuveny 等将用于液相色谱柱的 DEAE-纤维素进行改性后制成可用于 HeLa 和 Namalwa 等细胞贴壁培养的微载体^[5~7]。

上述事例说明,纤维素在细胞培养基质方面有着广泛的开发前景。但纤维素分子结构规整,结构相

10.14028/j.cnki.1003-3726.2015.02.006

收稿:2014-05-07;修回:2014-10-16;

基金项目:基金项目:教育部“创新团队发展计划”(IRT13091);校中青年科研基金(X2006-023);甘肃省科技计划资助(1203FKDA030);西北民族大学中央专项资金资助研究生项目(ycx14033);

作者简介:龙仕和(1989—),男,贵州松桃人,在读硕士研究生,主要从事生物材料的研发与应用;

* 通讯联系人,E-mail:fyp@xbmu.edu.cn.

当复杂,聚合度和结晶度高,存在难以溶解、熔点高等不利于加工生产的缺陷。近年来,其新溶剂体系成为当前的研究热点^[8]。另外,纤维素为刚性材料,表面不带电荷,而细胞表面一般带负电荷,导致细胞难以贴壁。van Wezel 等用 DEAE 基团对纤维素微球进行修饰,使其表面带有一定的电荷,结果发现细胞能够很好的贴壁生长^[9]。Ferrari 等用大孔纤维素微载体培养猪间充质干细胞,最终获得较高的细胞密度^[10]。尽管目前市场上已有商品化的大孔纤维素微载体(Cytopore),但实际中用经 DEAE 修饰的大孔纤维素微载体培养细胞时,微载体上仍存在许多空球,这可能与 DEAE 的使用量有关。因其量超过 1~2mg/mL,则对细胞会表现出一定的毒性^[11~12]。因此,利用纤维素及其一些衍生物制作组织工程支架和微载体有待进一步研究开发和完善。

1.2 甲壳素和壳聚糖

甲壳素(Chitin)是自然界中唯一带正电荷的碱性多糖,其含量仅次于纤维素,主要原料源于虾蟹壳。壳聚糖(Chitosan)则是甲壳素在特殊条件下脱去部分或全部乙酰基的产物,二者的分子结构见图 1 所示。由图 1 可知,甲壳素和壳聚糖分子链上富含羟基,且后者还含有游离氨基,这些基团化学性质活泼,可发生酚化、羟、羧基化与交联等反应生成其它结构和性能都不相同的衍生物。并且两者及其一些衍生物具有良好的生物相容性、可降解性和无抗原性等特性,易与细胞结合和被人体吸收,是一种理想的细胞基质材料,用途极广^[13]。壳聚糖的衍生物之一羧甲基壳聚糖被证明具有促细胞增殖作用^[14~18]。董仁斌等发现人脐带间充质干细胞在壳聚糖支架上生长良好并可分化为类髓核细胞,这在组织工程领域有着重要的潜在价值^[19]。另外,研究发现壳聚糖的游离氨基易与醛基发生交联反应,2013 年本实验室以戊二醛为交联剂,采用乳化-交联法研制了一种质地均匀,圆润光滑且高温高压条件下不会发生破损和溶解的壳聚糖微载体,细胞培养结果表明其具有很好的细胞相容性,适合多种动物细胞的贴壁生长,且细胞密度、代谢活性和粘附率较普通的单层培养条件下高,如图 2 所示。

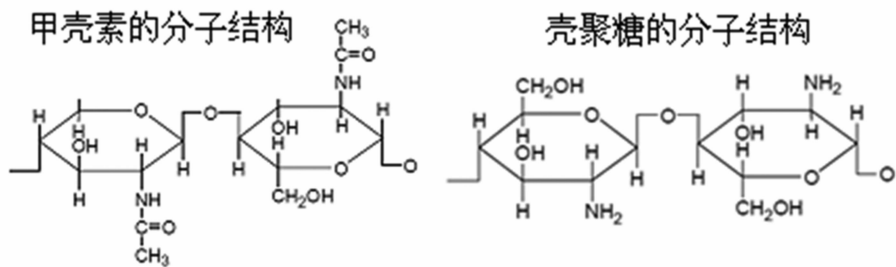


图 1 甲壳素和壳聚糖的分子结构
Figure 1 The molecular structure of chitin and chitosan

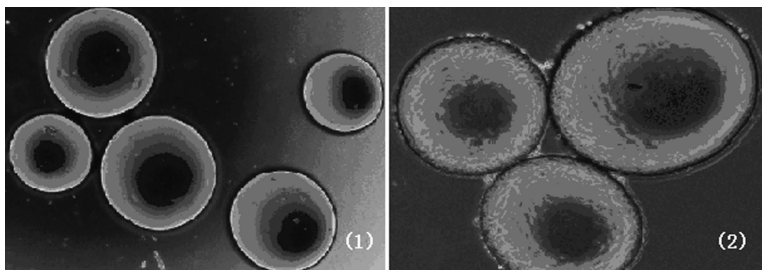


图 2 壳聚糖微载体(10×)
(1)未培养 Vero 细胞的壳聚糖微载体;(2)壳聚糖微载体上培养 48h 的 Vero 细胞
Figure 2 Chitosan microcarriers(10×)

(1):Chitosan microspheres without cultivated Vero cells;(2):cultivated vero cells on chitosan microcarriers at 48h

但两者由于多糖链间的氢键相连,导致不溶、不溶等缺陷,尽管在弱酸中可溶解,但溶解度较低,目前

还未能广泛的应用^[20]。另外,在壳聚糖微载体培养细胞时发现,壳聚糖微载体的原色较深,给观察细胞生长带来一定的困扰。不同脱乙酰度的壳聚糖所带的正电荷量有差异,若电荷量过多,则也会对细胞产生毒性。另外,壳聚糖还富含金属离子,它可以通过离子交换、吸附和螯合等多种模式与金属离子结合,对金属离子具有较强的富集能力^[21]。若将其用着细胞培养基质仍存在细胞重金属中毒的潜在危险,这些新问题有待进一步考察验证。因此,选择合适脱乙酰度的壳聚糖显得尤为重要。

1.3 海藻酸和琼脂糖

海藻酸(Alginate)属于天然多糖,类似细胞外基质中的糖胺聚糖(GAGs),广泛分布于褐藻或细菌的细胞壁中。海藻酸具有特殊的凝胶性质,6 位上的羧基与钠离子结合就会形成海藻酸钠盐。海藻酸钠低热无毒,具有良好的细胞相容性,在 $\text{pH}=6\sim 11$ 时表现出较好稳定性, pH 值小于 6 时会析出海藻酸, pH 值大于 11 时又会发生凝胶,在 $\text{pH}=7$ 时粘度最大,跟温度呈负相关,是一种阴离子聚电解质,表面缺乏细胞或蛋白的受体^[22]。因此,需作特殊的修饰改性后才可用作细胞支架。Bidarra 等在被精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)修饰的藻酸盐微球上接种 MSCs 后发现 MSCs 不仅代谢活性和存活率高,还可诱导向成骨细胞分化和促进 I 型胶原的合成^[23]。目前,海藻酸钠多半是和其它天然高分子如壳聚糖、丝素蛋白和胶原蛋白等制成复合材料用于细胞和酶的固定化、人工器官、细胞培养和天然药物分离纯化等领域^[24~26]。

琼脂糖(Agarose)是从海藻中分离出来的一种天然多糖,它跟海藻酸一样具有凝胶性质,凝胶时具有热可逆性,一般情况下较为稳定但不耐高温,其柔韧性和抗拉伸强度良好,是生化研究、免疫扩散等重要支持物。人们发现其还具有良好的生物相容性,可作为细胞支架材料,但应用较少。近年来,随着生物技术的飞速发展,将其作为细胞培养基质逐渐得到重视。Tran 等在琼脂糖支架上培养牛软骨细胞,结果发现牛软骨细胞既能很好的增殖分化,又可获得软骨组织一些产物如大量富含蛋白聚糖和 II 型胶原等^[27]。Stokols 等发现琼脂糖凝胶可诱导损伤神经轴的生长和修复,有望被作为一种良好的神经修复材料^[28]。但是琼脂糖属于惰性载体,不存在带电基团,没有细胞或蛋白受体,对细胞无附着或粘附性。因此,其需要与其它降解快、可与细胞或蛋白受体发生特殊相互作用、有生物活性的组分(如透明质酸)共混或接枝共聚改性^[29],对其进行修饰改性成为目前研究的热点问题。

1.4 透明质酸

透明质酸(Hyaluronic Acid, HA)本质是一种不含硫酸基团酸性天然粘多糖,主要存在于结缔组织细胞外基质(人体和动物)中,血清中含量最低,在软骨、滑液和脐带中含量较高,具有细胞相容性好、亲水性和粘弹性高等特性,被称为理想的天然保湿因子。在细胞吸附、增殖和分化过程中发挥着重要的作用,既能促进新骨组织生长又可逐步被生物降解^[30,31]。Martino 等研究发现脲-透明质酸能促进骨增殖分化,是骨形成蛋白 2 的一种载体工具^[32]。但透明质酸极易溶于水,一直以来其过强的亲水性,易被透明质酸酶分解,降解速度过快,在体内保留时间短和在水溶液中力学性能较差等缺陷是其未广泛用作细胞培养基质的重要原因^[33,34]。为此,学者们设法对其进行改性,减缓其降解速度和提高其机械性能和抗透明质酸酶降解能力^[35,36]。近年来,透明质酸在皮肤组织工程和复合材料领域的应用备受学者们的青睐^[37,38]。

2 天然蛋白类细胞培养基质

2.1 丝素蛋白

蚕丝主要成分为丝胶蛋白(约占 22%)和丝素蛋白(约占 76%),其余 3% 左右为次要成分(见表 1)。丝素蛋白(Silk Fibroin)是蚕茧经过特殊技术(缫丝)处理后再脱胶而得的一种天然的呈纤维状蛋白。蚕丝经脱胶后获得的是丝素纤维(直径 $10\mu\text{m}$),丝素纤维是由数百条丝素细纤维(Fibril,直径 $0.2\sim 0.4\mu\text{m}$)集成束而构成。丝素细纤维本身又是由丝素微纤维(Microfibril,直径为 $0.01\sim 0.02\mu\text{m}$)的集合体。丝素微纤维则是丝素蛋白分子的集合体,这些分子主要由 55%~60% 表层的无定形区和 40%~45% 里

表 1 蚕丝的化学组成^[39]
Table 1 The chemical composition of silk

组成成分	含量/%
丝素	70~80
丝胶	20~30
脂质与蜡	0.4~0.8
色素	1.2~1.6
碳水化合物	0.2
灰分	0.7

层的结晶区组成,其中结晶区包括 silk I 型和 silk II 型 2 种结晶形态^[39]。

丝素蛋白属于非哺乳动物源性,具有良好的细胞相容性和亲水性,其分子链上精氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸三肽序列被赋予细胞粘附座的美誉,它能支持多种细胞的粘附和增殖分化,广泛受到了国内外研究者的关注。Li 等发现接枝于丝素蛋白支架材料上的人骨髓间充质细胞(hBMSCs)能很好地增殖分化,既不引起任何炎症副反应又可促进骨再生能力^[40]。Lu 等研究发现以胶原与丝素为原料制成的复合纳米多孔材料具有很好的细胞亲和性,可促进细胞的粘附和生长^[41]。Xu 等发现血旺细胞在纺丝网上生长良好,有望被用作神经修复材料^[42]。但以纯丝素蛋白溶液制得的细胞培养基质如丝素膜、多孔支架及微载体等材料在水中的具有溶失率大,抵抗酶、酸、碱等能力差等缺陷,难以满足细胞扩大培养。为此,丝素蛋白的交联技术仍是当前的研究热点^[43]。图 3 为 BHK-21 细胞接种于丝素纤维、自制丝素蛋白膜(温度梯度法制备)和表面包裹一层丝素蛋白的壳聚糖微载体(以戊二醛为交联剂)细胞的贴壁和生长状况。细胞培养结果发现,BHK-21 细胞 20min 时在丝素纤维上就能较好地贴壁,24h 时就可丝素蛋白膜和表面包裹丝素蛋白的壳聚糖微载体上生长致密,且细胞易被酶消化脱落,可正常连续传代,细胞形态正常。丝素蛋白膜和丝素蛋白/壳聚糖微载体在水中溶失率低,能重复利用,适合于多种动物细胞贴壁培养。

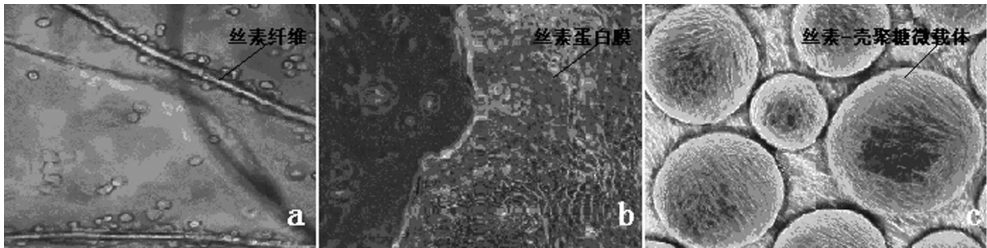


图 3 BHK-21 细胞的粘附和生长状况(10×)

a: BHK-21 细胞 20min 时在丝素纤维上的贴壁情况; b: 丝素蛋白膜上培养 24h 的 BHK-21 细胞;
c: 丝素蛋白/壳聚糖微载体上培养 24h 的 BHK-21 细胞

Figure 3 Adhesion and growth condition of BHK-21 cells(10×)

a: Adhesion condition of BHK-21 cells on silk fiber at 20min; b: cultivated BHK-21 cells on silk membrane at 24h;
c: cultivated BHK-21 cells on silk fibroin which is wrapped around chitosan microcarriers at 24h

2.1 胶原和明胶

胶原(Collagen)是动物体内含量最多、分布最广的一类特殊水不溶性纤维蛋白,呈三螺旋结构,是细胞外基质的骨架的重要组分。其机械强度和弹性能力好,与组织增殖分化、细胞间信息识别、传递和细胞免疫等密切相关,在细胞的迁移和发育中扮演着重要的角色。明胶(Gelatin)则是胶原经特殊条件处理后的变性产物。二者分子链上富含活泼的氨基、羟基和羧基,在酸性条件下易与京尼平和戊二醛发生交联反应,它们的生物相容性好,无免疫原性低且能促进细胞生长和修复创伤,与其它天然高分子材料相比,它们在细胞培养基质领域的应用较为成熟。如 Lau 等以京尼平为交联剂制出的明胶微载体能促进细胞

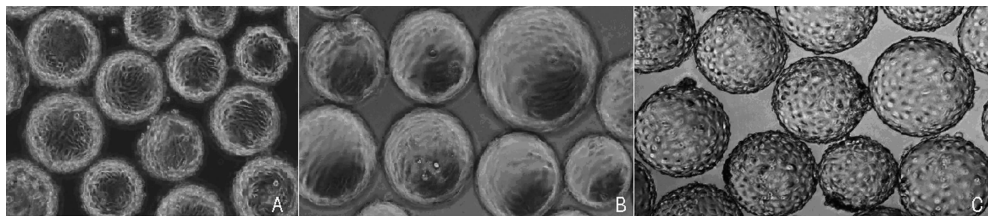


图 4 三种不同细胞在明胶微载体上培养 48h 的生长状况(10×)

A: Vero 细胞; B: CHO-K1 细胞; C: Marc-145 细胞;

Figure 4 The growth condition of three different of cells at 48 hours on the gelatin microcarriers(10×)

A: Vero cells; B: CHO-K1 cells; C: Marc-145 cells

的粘附与生长^[44]。Tsai 等以戊二醛作为交联剂将胶原溶液和硫酸软骨素混合制得的复合微球也能很好地支持人成骨样细胞的增殖生长^[45]。2012 年本实验室冯玉萍等成功研制出一种适合于多种贴壁细胞的大规模悬浮培养的明胶微载体^[46](见图 4),目前已用于生物反应器微载体悬浮培养 BHK-21 细胞生产口蹄疫疫苗。另外,明胶和胶原微载体培养细胞易被酶解从而可收获高质量的细胞悬浮液。

但是胶原和明胶也存在降解快、机械强度小等缺陷,需加以修饰改性方能满足实际应用^[47]。郑学晶等用双醛淀粉(DAS)交联改性明胶,研究了改性明胶相关性质的变化,结果发现,适量的 DAS 可大幅度提高明胶的拉升强度,降低明胶膜对水的敏感性,交联后,明胶的热降解稳定性也有所提高^[48]。

3 存在的问题

近年来,天然高分子材料作为细胞培养基质的优越性和巨大潜在价值备受学者们的青睐,学者们开展了大量的研究工作并取得了一定的进展。但天然高分子材料仍存在一些亟待解决的问题,如力学性能低、机械强度差、难在一定时间内保持外观和结构的完整性以及缺乏细胞或蛋白的粘附因子等^[49,50]。因此,需对其作合理的修饰改性方可满足实际应用。而且已商品化大孔纤维素微载体(Cytopore)仍面临着细胞难收获重大问题^[51]。再如用明胶微载体培养细胞去生产单抗和干扰素等生物制品时,均是一次性使用且其易被 0.25% 胰蛋白酶和 EDTA 溶解,这不但造成了资源的浪费还给收获细胞产品带来一定困难^[52],且因其属于哺乳动物源性,用于生产人用疫苗的安全性已遭到质疑。另外,在对天然高分子材料加工改性时难免会引入有机溶剂和引发剂,如用乳化交联法制备丝素蛋白缓释微球,将会面临着甲醛、戊二醛等交联剂的除残问题^[53]。总之,以天然高分子材料制备细胞培养基质有其优越性和巨大潜在价值,如何克服其缺点和弊端,以开发具有很好市场前景的细胞培养基质,有待进一步研究。

4 展望

天然高分子材料细胞培养基质在生物反应器细胞高密度培养、临床治疗或修复损伤组织、替换坏死或病变器官等领域的应用价值是不言而喻的。但这一领域对天然高分子材料的原料的来源要求甚高,而且单一高分子材料存在一定的缺陷,难以满足实际应用。我国海洋资源丰富且是养殖和丝绸大国,各种天然高分子材料来源丰富。但目前用于大规模细胞培养基质主要依赖于国外已商品化的 Cytodex 系列微载体,而国内尚处研制之中,这主要由于国外对微载体的研究起步较早,微载体的制备技术和生产应用已逐渐完善和成熟^[54~56]。当前细胞培养用基质如微载体等的缺乏是限制我国从转瓶细胞培养工艺向生物生物反应器细胞培养转型的瓶颈之一。因此,在国内开发新型细胞培养基质前景广阔且势在必行。如何挖掘天然高分子材料的潜在价值? 如何吸取人工合成高分子材料的长处,设计出既具有良好生物相容性,体内降解速率可控,又能促进细胞粘附生长,还可重复利用的细胞培养基质将是今后研究的发展趋势。

参考文献:

- [1] Darder M, Aranda P, Ruiz-Hitzky E. *Adv Mater*, 2007, 19 (10): 1309~1319.
- [2] Pooyan P, Tannenbaum R, Garmestani H. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2012, 7:50~59.
- [3] Rodriguez K, Gatenholm P, Renneckar S. *Cellulose*, 2012, 19 (5): 1583~1598.
- [4] Huang C, Niu H T, Wu C C, Ke Q F, Mo X M, Lin T. *J Biomed Mater Res A*, 2013, 101 (1): 115~122.
- [5] Reuveny S, Bino T, Rosenberg H, Mizrahi A. *Dev Biol Stand*, 1979, 46: 137~145.
- [6] Reuveny S, Silberstein L, Shahr A, Freeman E, Mizrahi A. *In Vitro-Plant*, 1982, 18 (2): 92~98.
- [7] Talbot P, Keen M J. *Dev Biol Stand*, 1979, 46: 147~149.
- [8] 黄丽滨. 纤维素的溶解再生与接枝改性. 广州: 华南理工大学硕士学位论文, 2013.
- [9] van Wezel A L. In *Tissue Culture, Methods and Applications*. Kruse P F and Patterson M R. Cademic Press; New York, 1973, pp. 372~377.
- [10] Ferrari C, Olmos E, Balandras F, Tran N, Chevalot I, Guedon E, Marc A. *Appl Biochem Biotechnol*, 2014, 172 (2): 1004~1017.
- [11] Levine D W, Wang D I C. *Biotechnol Bioeng*, 1979 (21): 821~845.
- [12] Horng C B, McLimans W. *Biotechnol Bioeng*, 1975, 17 (5): 713~731.
- [13] Ragetly G R, Griffon D J, Lee H B, Chung Y S. *J Mater Sci Mater Med*, 2010, 21 (8): 2479~2490.
- [14] 贺斌, 陶海鹰, 卫爱林, 刘世清. 中国组织工程研究, 2014, 18 (3): 389~394.
- [15] Si H Y, Li D P, Wang T M, Zhang H L, Ren F Y, Xu Z G, Zhao Y Y. *J Nanosci Nanotechnol*, 2010, 10 (4): 2325~2331.
- [16] El-Far M, Elshal M, Refaat M, El-Shaerbiny I M. *Drug Dev Ind Pharm*, 2011, 37 (12): 1481~1490.
- [17] He B, Liu S Q, Chen Q, Li H H, Ding W J, Deng M. *Eur J Pharmacol*, 2011, 667 (1): 195~201.
- [18] Tao H Y, He B, Liu S Q, Wei A L, Tao F H, Tao H L, Deng W X, Li H H, Chen Q. *Eur J Pharmacol*, 2013, 702 (1): 85~92.
- [19] 董仁斌. 人脐带间充质干细胞在壳聚糖支架上向类髓核细胞分化的实验研究. 苏州: 苏州大学博士学位论文, 2013.
- [20] Liu X W, Hu Q Y, Fang Z, Zhang X J, Zhang B B. *Langmuir*, 2009, 25 (1): 3~8.
- [21] 何乐, 陈复生, 刘伯业, 孙倩. 天然高分子可降解材料的研究与发展. 化工新型材料, 2011, 39 (5): 4~6.
- [22] 张学良. 海藻酸钠及其衍生物电纺纳米纤维制备和性质研究. 海南: 海南大学硕士学位论文, 2012.
- [23] Bidarra S J, Barrias C C, Barbosa M A, Soares R, Granja P L. *Biomacromolecules*, 2010, 11 (8): 1956~1964.
- [24] Huang X, Zhang X, Wang X, Wang C, Tang B. *J Biosci Bioeng*, 2012, 114 (1): 1~8.
- [25] Datta S, Christena L R, Rajaram Y R S. *Biotech*, 2013, 3 (1): 1~9.
- [26] Hussein A S, Abdullah N, Ahmadun F R. *Int J Nanoparticles*, 2012, 5 (4): 316~337.
- [27] Tran-Khanh N, Chevrier A, Lascau-Coman V, Hoemann C D, Buschmann M D. *Connect Tissue Res*, 2010, 51 (3): 216~223.
- [28] Stokols S, Tuszynski M H. *Biomaterials*, 2006, 27 (3): 443~451.
- [29] 黄建艳. 琼脂糖接枝透明质酸共聚物作为多肽载体的研究. 广州: 暨南大学博士学位论文, 2009.
- [30] Collins M N, Birkinshaw C. *Carbohydr polym*, 2013, 92 (2): 1262~1279.
- [31] Depan D, Girase B, Shah J S, Misra R D K. *Acta Biomater*, 2011, 7 (9): 3432~3445.
- [32] Kisiel M, Martino M M, Ventura M, Hubbell J A, Hilborn J, Ossipov D A. *Biomaterials*, 2013, 34 (3): 704~712.
- [33] Lapcik L, Smedt D S, Demeester J. *Chem Rev*, 1998, 98 (8): 2663~2684.
- [34] Collins M N, Birkinshaw C. *J Appl Polym Sci*, 2007, 104 (5): 3183~3191.
- [35] 崔媛, 段潜, 李艳辉. 长春理工大学学报, 2011, 34 (3): 101~106.
- [36] 王娟勤. 透明质酸的改性及功能化. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2013.
- [37] Kim I L, Mauck R L, Burdick J A. *Biomaterials*, 2011, 32 (34): 8771~8782.
- [38] Fischer R L, McCoy M G, Grant S A. *J Mater Sci Mater Med*, 2012, 23 (7): 1645~1654.
- [39] 吕鸿声. 养蚕学原理. 上海: 上海科学技术出版社, 2011, 277~293.
- [40] Li C, Vepari C, Jin H J, Kim H J, Kaplan D L. *Biomaterials*, 2006, 27 (16): 3115~3124.
- [41] Lu Q, Wang X L, Lu S, Li M, Kaplan D L, Zhu H. *Biomaterials*, 2011, 32 (4): 1059~1067.
- [42] Xu S, Yan X, Zhao Y, Wang W, Yang Y. *J Appl Polym Sci*, 2011, 119 (6): 3490~3494.
- [43] 焦宇虹, 李明忠. 现代丝绸科学与技术, 2011, 26 (6): 242~246.
- [44] Lau T T, Wang C, Wang D A. *Compos Sci Technol*, 2010, 70 (13): 1909~1914.

[45] Tsai S W, Chen C C, Liou H M, Hsu F Y. J Biomed Mater Res A, 2010, 93 (1): 115~122.

[46] 冯玉萍, 马忠仁, 李明生, 田伟, 马桂兰, 暴艳敏. 中国, 201310211566. 2013-09-04.

[47] 李芳霞, 孙志丹, 李涛, 陈晓浪, 周先礼, 王晓敏, 王萃娟, 张志斌. 化工新型材料, 2013, 5 (41): 5~6.

[48] 郑学晶, 李俊伟, 刘捷, 张振飞, 刘小凡, 王晶, 汤克勇. 中国皮革, 2011, 40 (23): 28~36.

[49] Lin C Y, Kikuchi N, Hollister S J. J Biomech, 2004, 37 (5): 623~636.

[50] Takezawa T. Biomaterials, 2003, 24 (13): 2267~2275.

[51] Martens D E, Nollen E A A, Hardeveld M, Van der Velden-de Groot C A M, De Gooijer C D, Beuvery E C, Tramper J. Cytotechnology, 1996, 21 (1): 45~59.

[52] 魏凤, 管宇, 肖跃强, 吕素芳, 张文通, 沈志强. 黑龙江畜牧兽医, 2013, (9): 34~36.

[53] 党婷婷, 陈爱政, 王士斌. 化工进展, 2012, 31 (7): 1587~1591.

[54] Van Wezel A L. Nature, 1967, 216 (5100): 64~65.

[55] Martin Y, Eldardiri M, Lawrence-Watt D J, Sharpe J R. Tissue Engineering Part B-Revi, 2010, 17 (1): 71~80.

[56] 周燕, 刘宝林, 杨波, 王欣, 彭承宏, 韩宝三. 中国组织工程研究, 2010, 14 (16): 2945~2948.

Advances of Natural Macromolecular Cell Culture Matrix

LONG Shi-he^{1,3}, LI Ming-sheng^{1, 2}, JIN Dong-wu^{1, 2}, MA Zhong-ren^{1, 2}, FENG Yu-ping^{1, 2*}

(1. *The Key Bio-engineering and Technology Laboratory of Nationality Commission, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China;*
2. *Engineering Technology Research Center for Animal Cell Gansu, Lanzhou 730030, China;*
3. *Life Science and Engineering College of Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China*)

Abstract:Materials in natural polymers have weak allograft antigenicity, good compatibility and biodegradable and can promote cell adhesion, growth and proliferation, Such as chitosan, silk fibroin and collagen. Compare to synthetic polymer, the natural polymers almost do not contain organic solvent and initiators. It showed high biological safety and is preferential to use in cell culture matrix raw materials. In recent years, along with the development of biotechnology, new functions of these natural polymer are being found and valued. In this paper, the physical and chemical properties of natural polysaccharide and protein as well as their application as cell culture matrix are reviewed in details, and the existing problems were described and the development directions of these materials was forecasted.

Key words:Natural polymers; Biocompatibility; Cell culture matrix