

水解乳蛋白在 BHK-21 悬浮细胞培养中的应用研究

张邵博^{1,2,3}, 马忠仁^{1,2,3}, 何云福³, 程浩³, 兰海鸥³, 靳冬武⁴,
丁功涛^{1,2,3}, 冯玉萍^{1,2,3}, 李明生^{1,2,3*}

¹西北民族大学生物工程与技术国家民委重点实验室, ²西北民族大学甘肃省动物细胞工程技术研究中心,

³西北民族大学生命科学与工程学院, ⁴兰州民海生物工程有限公司, 兰州 730030

摘要: 采用胰酶水解酪蛋白、LH35 乳清蛋白和 LH80 乳清蛋白分别制得酪蛋白水解物(CH)、LH35 乳清蛋白水解物(LH35)和 LH80 乳清蛋白水解物(LH80)。以 Hyclone 水解乳蛋白(HLH)为对照, 研究了不同水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞生长代谢的影响, 结果表明: 在培养基中添加 2 ag/L 水解乳蛋白时, CH、LH35、LH80 和 HLH 对 BHK-21 悬浮细胞均有促生长作用, 其中 LH35、LH80 促生长效果优于 HLH, CH 与 HLH 促生长效果基本一致。水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞的生化、酶和氨基酸的代谢均有不同程度的影响。这为蛋白水解物在细胞培养中的应用奠定基础。

关键词: 水解乳蛋白、BHK-21 悬浮细胞、生化代谢、氨基酸代谢

中图分类号: R284.1; Q946.91

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.S.011

Application of Hydrolyzed Milk Protein in BHK-21 Suspension Cell Culture

ZHANG Shao-bo^{1,2,3}, MA Zhong-ren^{1,2,3}, HE Yun-fu³, CHENG Hao³, LAN Hai-ou³,
JIN Dong-wu⁴, DING Gong-tao^{1,2,3}, FENG Yu-ping^{1,2,3}, LI Ming-sheng^{1,2,3*}

¹Key Laboratory of Bioengineering & Biotechnology of State Ethnic Affair Commission, Northwest University for Nationalities,

²Engineering Technology Research Center for Animal Cell,

³Life Science and Engineering College of Northwest University for Nationalities,

⁴Lanzhou MinHai Bio-Engineering Co., Ltd, Lanzhou 730030, China

Abstract: Casein hydrolysate (CH), LH35 whey protein hydrolysate (LH35) and LH80 whey protein hydrolysate (LH80) were prepared by trypsin hydrolysis of casein, LH35 whey protein and LH80 whey protein, respectively. Hyclone hydrolyzed milk protein (HLH) was used as a control to study the effects of different hydrolyzed milk proteins on the growth and metabolism of BHK-21 suspension cells. The results showed that when 2g/L hydrolyzed milk protein was added to the medium, CH, LH35, LH80 and HLH had a growth-promoting effect on BHK-21 suspension cells, among which LH35 and LH80 had better growth promoting effects than HLH, and CH and HLH had similar growth promoting effects. Hydrolyzed milk proteins have different effects on the biochemical, enzymatic and amino acid metabolism of BHK-21 suspension cells. This lays the foundation for the application of protein hydrolysates in cell culture.

Key words: hydrolyzed milk protein, BHK-21 suspension cells, biochemical metabolism, amino acid metabolism

蛋白水解物是蛋白质经过酶、酸或碱水解之后得到的产品, 其主要成分为肽类, 还包含少量氨基酸、糖类、脂类、矿物质和维生素等物质^[1]。近 10 年来, 蛋白质水解产物作为无/低血清培养基的添加剂广泛的应用于微生物细胞蛋白表达, 哺乳动物细胞的蛋白表达、昆虫细胞的蛋白表达、疫苗^[2-4]等生物技术领域中。水解乳蛋白是一种重要的蛋白水解物, 是乳蛋白经蛋白酶或肤酶水解的产物, 含有丰富

的氨基酸和多肽, 可为细胞生长提供多种营养成分、贴壁因子及生长因子类似物等^[5]。Davamin F 等^[6]在不同的培养基中添加了酪蛋白水解物, 研究了酪蛋白水解物对 CHO DG44 生长、代谢途径、以及氨基酸代谢的影响, 研究结果表明酪蛋白水解物促细胞生长效果。张小苹^[7]研究发现在植物芽分化中附加水解乳蛋白, 对于芽分化、增长有效。关海滨^[8]等通过单因素添加实验考察长双歧杆菌发酵培养基的碳源和氮源的种类, 结果显示培养基的最适碳源为葡萄糖, 最适氮源为酪蛋白胨、牛肉蛋白

豚、水解乳蛋白。

目前国内关于水解乳蛋白在动物细胞培养中的应用研究很少,本文将水解乳蛋白作为无血清培养基的添加物,BHK-21 悬浮细胞为研究对象,研究总结了水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞生长代谢的影响,以期在水解乳蛋白在细胞培养中的应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

酪蛋白(casein)购自甘肃华羚生物技术有限公司,水解乳蛋白购自 Hyclone 公司, LH35 乳清和 LH80 型乳清蛋白均由甘肃省动物细胞工程技术研究中心提供,叙利亚仓鼠肾细胞(BHK-21)由甘肃省动物细胞工程中心提供;MEM 培养基购自兰州百灵生物技术有限公司;茛三酮缓冲液和茛三酮溶液购自日本 Wako 公司;PF 系统缓冲液购自日本 Wako 公司;其它试剂均为分析纯。

CK40-32PH 型倒置相差显微镜,日本 Olympus; ZWY-2102C 型恒温培养振荡器,上海智城;NOVA 多参数全自动生化分析仪,美国 Applitech;7020 型全自动生化分析仪,日立;L-8900 型全自动氨基酸分析仪,日立。

1.2 实验方法

1.2.1 水解乳蛋白的制备

分别取酪蛋白、LH35 乳清蛋白和 LH80 型乳清蛋白适量,采用胰酶进行水解^[9],具体条件为底物浓度 15%,酶与底物比例(E/S)为 1:5,温度为 50℃,pH 为 7.5,水解时间 4 h。水解液板框压滤后采用 10KD 的超滤膜进行超滤,得到精制水解乳蛋白,冷冻干燥后制得水解乳蛋白干粉。

1.2.2 培养基的配制

以 SFM 培养基为基础培养基,按照 2 g/L 添加量分别将自制 CH、LH35、LH80 型水解乳蛋白添加至基础培养基中,考察不同类型的水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞的生长代谢的影响,并与市售的 SFM-BHK 培养基作为质控组进行对比研究,同时以 Hyclone 水解乳蛋白为对照组。

1.2.3 水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞连续传代培养的影响

取生长良好的 BHK-21 悬浮细胞,按 60 万/mL 细胞接种,培养体积为 50 mL,转速为 120 rpm。分别采用含不同水解乳蛋白的培养基进行连续传代培

养 10 代,考察水解乳蛋白对细胞增殖的影响。

1.2.3 水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞增殖的影响

取生长良好的 BHK-21 悬浮细胞,按 60 万/mL 细胞接种,培养体积为 50 mL,转速为 120 rpm。每 24 h 进行取样并计数,直至细胞密度降低为止。以培养时间为横坐标,细胞密度为纵坐标,绘图细胞的生长曲线图,计算细胞最大增殖浓度。

1.2.4 水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞生化代谢的影响

每隔 24 h 取 2 mL 离心后上清液冷冻留样,采用 NOVA 生化分析仪分别对葡萄糖、乳酸、谷氨酰胺、谷氨酸和氨含量进行检测。最后以培养时间为横坐标,葡萄糖、乳酸、谷氨酰胺、谷氨酸和氨含量为纵坐标进行绘图,得到细胞代谢曲线图。

1.2.5 水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞酶活力代谢的影响

每隔 24 h 取 2 mL 离心后上清液冷冻留样,采用日立 7020 型生化分析仪对乳酸脱氢酶、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、磷酸肌酸激酶活力进行检测。最后以培养时间为横坐标,乳酸脱氢酶、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、磷酸肌酸激酶的活力为纵坐标,进行绘图,得到细胞代谢曲线图。

1.2.6 游离氨基酸代谢分析

为了考察水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞生化代谢的影响,每 24 h 取样离心去除细胞,取上清用 7% 的三氯乙酸稀释样品并沉淀蛋白 15 000 rpm 离心 15 min 后,采用 L8900 全自动氨基酸分析仪对氨基酸代谢进行分析。检测上清液中丝氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、蛋氨酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、胱氨酸、精氨酸、赖氨酸、酪氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸和组氨酸 16 种氨基酸的代谢情况进行分析。最后以培养时间为横坐标,氨基酸浓度为纵坐标,绘制代谢趋势图。

1.2.7 数据处理

每组实验平行三次实验,采用 SPSS 19.0 进行统计分析,最后实验数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结果与分析

2.1 BHK-21 细胞悬浮培养结果

从图 1 中可以看出,质控组 SFM-BHK 培养基培养 BHK-21 悬浮细胞,细胞生长正常,以 6×10^5

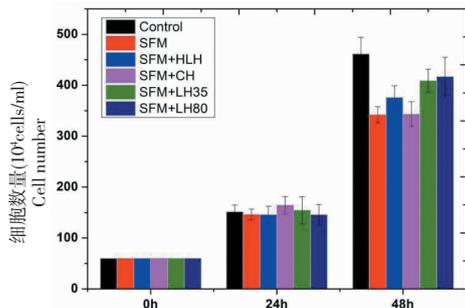


图1 BHK-21 悬浮细胞连续传代培养结果

Fig. 1 Results of BHK-21 suspension cells growth profiles during successive passages

个/mL 细胞浓度接种,在 24 h 细胞数量达到 1.6×10^6 个/mL,48 h 细胞数量达到 4.63×10^6 个/mL,这说明培养体系符合要求;在 24 h 时,各组没有明显的差异,其中实验组 SFM + CH 的细胞数量略高于其它组。在 48 h 时,各组相互之间差异显著,SFM、SFM + HLH、SFM + CH、SFM + LH35 和 SFM + LH80 的细胞数量分别达到 3.42×10^6 个/mL、 3.75×10^6 个/mL、 3.43×10^6 个/mL、 4.10×10^6 个/mL 和 4.17×10^6 个/mL,均低于质控组细胞,这可能与细胞的适应性有关。但与空白组相比较,水解乳蛋白有明显的促细胞生长效果,其中 LH80 和 LH35 均高于 HLH,而 CH 效果不明显。

2.2 水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞增殖的影响

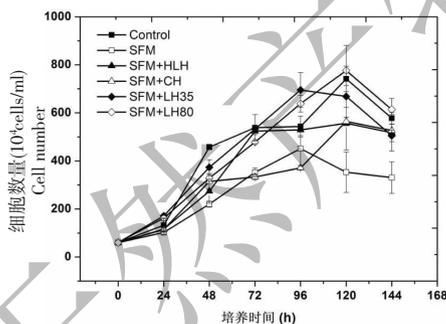


图2 不同水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞的影响

Fig. 2 Effect of different lactoalbumin hydrolysate on the growth BHK-21 suspension cells

根据图 2 可以看出,质控组细胞在 120 h 达到最高值,最大增殖浓度为 7.42×10^6 个/mL。在质控组细胞生长正常的情况下,4 种水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞均有明显的促生长效果,细胞增殖浓度从高到低依次为 SFM + LH80、SFM + LH35、SFM + CH 和 SFM + HLH,细胞数量分别为 $7.76 \times$

10^6 个/mL、 6.95×10^6 个/mL、 5.64×10^6 个/mL 和 5.56×10^6 个/mL,均高于空白组 SFM 培养基,即 4.52×10^6 个/mL,高出空白组 1.0×10^6 个/mL 的细胞数量。4 种水解乳蛋白之间相比较,酪蛋白来源的水解乳蛋白与 Hyclone 水解乳蛋白的促细胞生长效果基本一致,经统计学分析两组之间差异不显著。而 LH35 和 LH80 型的水解乳蛋白与 Hyclone 水解乳蛋白相比较,其促细胞生长效果极为明显,细胞增值浓度差异显著。LH35 和 LH80 的最大增殖浓度高出 Hyclone 水解乳蛋白 1.5×10^6 个/mL 细胞数量。由此可以得出,水解乳蛋白对 BHK-21 细胞具有明显的促生长效果,可应用于 BHK-21 细胞无血清培养基中,推进 BHK-21 悬浮细胞无血清培养基的开发。

2.3 水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞生化代谢的影响

根据图 3 葡萄糖代谢趋势图可以看出,葡萄糖含量随着 BHK-21 细胞的增殖逐渐降低。质控组 SFM-BHK 与 SFM、SFM + HLH、SFM + CH、SFM + LH35、SFM + LH80 葡萄糖代谢趋势基本相似。与质控组相比较,SFM 初始葡萄糖含量较低,而加入水解乳蛋白的实验组 SFM + HLH、SFM + CH、SFM + LH35 和 SFM + LH80 的初始葡萄糖含量基本一致,没有显著差异,均高于 SFM。这说明水解乳蛋白中约含有 0.5 mmol/L 的葡萄糖。在 0 ~ 96 h 范围内,随着细胞数量的增加葡萄糖含量随之降低。在 96 h 时,质控组、SFM + CH、SFM + LH35 和 SFM + LH80 四组培养基中的葡萄糖含量接近与 0 g/L;而空白组 SFM 和 Hyclone 水解乳蛋白 SFM + HLH 相当,葡萄糖消耗相对缓慢。在 144 h 时继续有 0.25 g/L 的葡萄糖。这是因为这两组细胞的增值浓度相对较低,从而葡萄糖的消耗量也相对偏低。

根据图 3 乳酸代谢趋势图可以看出,含有水解乳蛋白的四组培养基中乳酸代谢方式与质控组和空白组明显不同。质控组在 0 ~ 72 h 范围内乳酸含量显著升高,在 72 h 达到最大值,随后略有降低;空白组 SFM 在 0 ~ 48 h 显著升高,48 h 后基本保持不变;而 SFM + HLH、SFM + CH、SFM + LH35、SFM + LH80 四组含有水解乳蛋白的培养基在 0 ~ 48 h 显著升高,在 48 h 后乳酸含量又显著下降。这与 Burteau 等^[10]学者研究结果一致,当葡萄糖消耗完后,乳酸被植物蛋白水解物触发被作为碳源从而被细胞所利用。

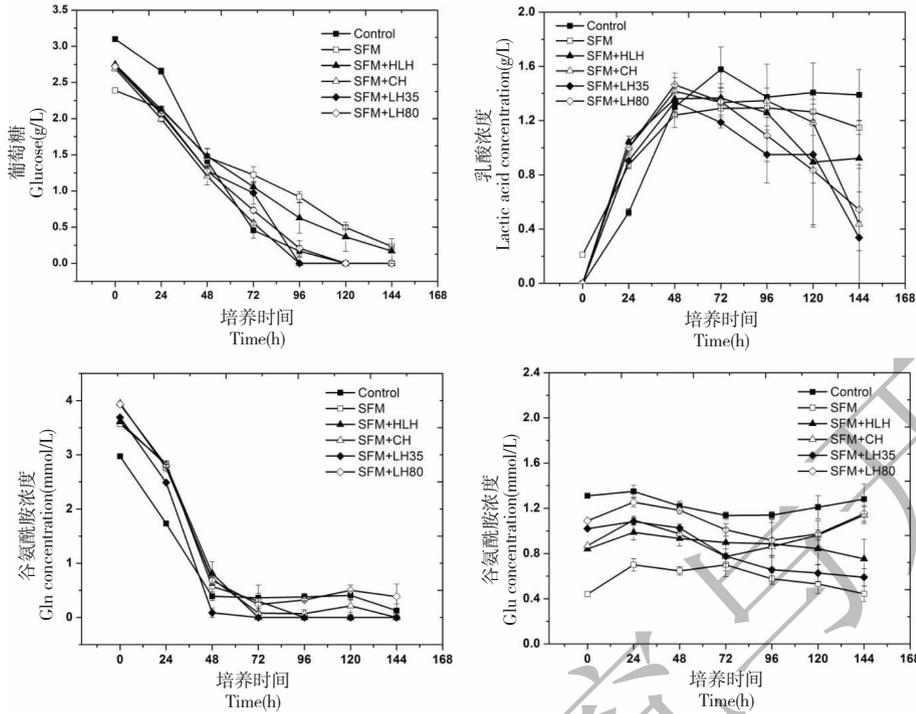


图3 BHK-21 悬浮细胞在含有水解乳蛋白无血清培养基生化代谢趋势图

Fig. 3 Profiles of biochemical metabolites of BHK-21 cells culture in SFM supplement with different hydrolysates

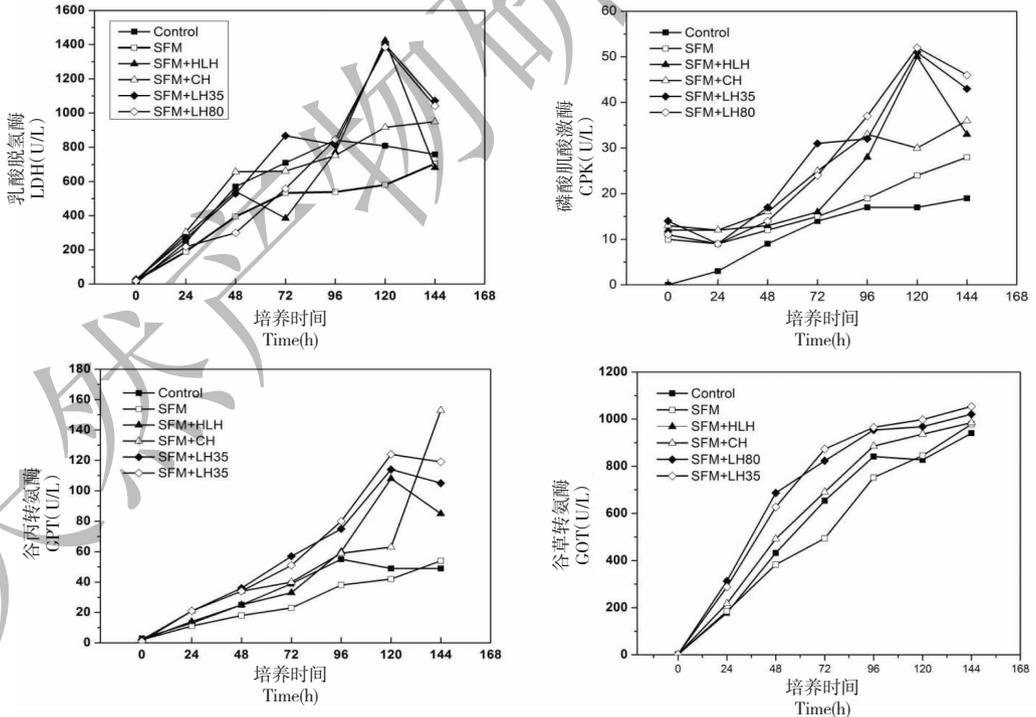


图4 BHK-21 悬浮细胞在含有水解乳蛋白无血清培养基酶代谢趋势图

Fig. 4 Profiles of enzymatic metabolites of BHK-21 cells culture in SFM supplement with different hydrolysates

根据图3 谷氨酰胺代谢趋势图可以看出,质控组、空白组和实验组的代谢趋势基本一致。在0 ~

48 h 内谷氨酰胺含量显著下降。随后谷氨酰胺的含量基本接近于0 mmol/L。这说明 BHK-21 细胞在

生长过程中需要消耗大量的谷氨酰胺,它不仅是细胞主要的氮源物质,而且还是细胞的重要能源物质^[11]。

根据图 3 谷氨酸代谢趋势图可以看出,质控组、空白组和实验组的代谢趋势基本一致。其含量没有明显的变化。其基本趋势为先降低后升高趋势。

氨是谷氨酰胺主要的副产物,对细胞生长有抑制作用^[11]。根据图 3 氨代谢趋势图可以看出,质控组氨的代谢方式与其它五组略有不同,质控组在整个培养过程中氨含量持续升高,而 SFM、SFM + HLH、SFM + CH、SFM + LH35 和 SFM + LH80 在 0-48 h 显著升高,随后基本保持平衡,而在 120h 再次升高。

2.4 水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞酶代谢的影响

根据图 4 可以看出,在 BHK-21 悬浮细胞生长过程中乳酸脱氢酶、磷酸肌酸激酶、谷丙转氨酶和谷

草转氨酶四种酶的酶活力均有所升高。在 120h 时乳酸脱氢酶、磷酸肌酸激酶和谷草转氨酶达到最高值,随后降低,而谷草转氨酶继续升高。含有水解乳蛋白的 SFM + HLH、SFM + CH、SFM + LH35 和 SFM + LH80 四种培养基中的乳酸脱氢酶、磷酸肌酸激酶、谷丙转氨酶和谷草转氨酶四种酶的酶活力在整个过程中均高于质控组和空白组 SFM 中的酶活力。

2.5 水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞氨基酸代谢的影响

根据氨基酸代谢情况,其代谢方式分为快速消耗氨基酸、积累氨基酸、先积累后消耗氨基酸以及缓慢消耗氨基酸四种类型的氨基酸。

2.5.1 先积累后消耗氨基酸

根据图 5 可以看出,BHK-21 悬浮细胞代谢过程中先积累后消耗的氨基酸主要有苏氨酸(Thr)、丙氨酸(Ala)和酪氨酸(Tyr)三种氨基酸。

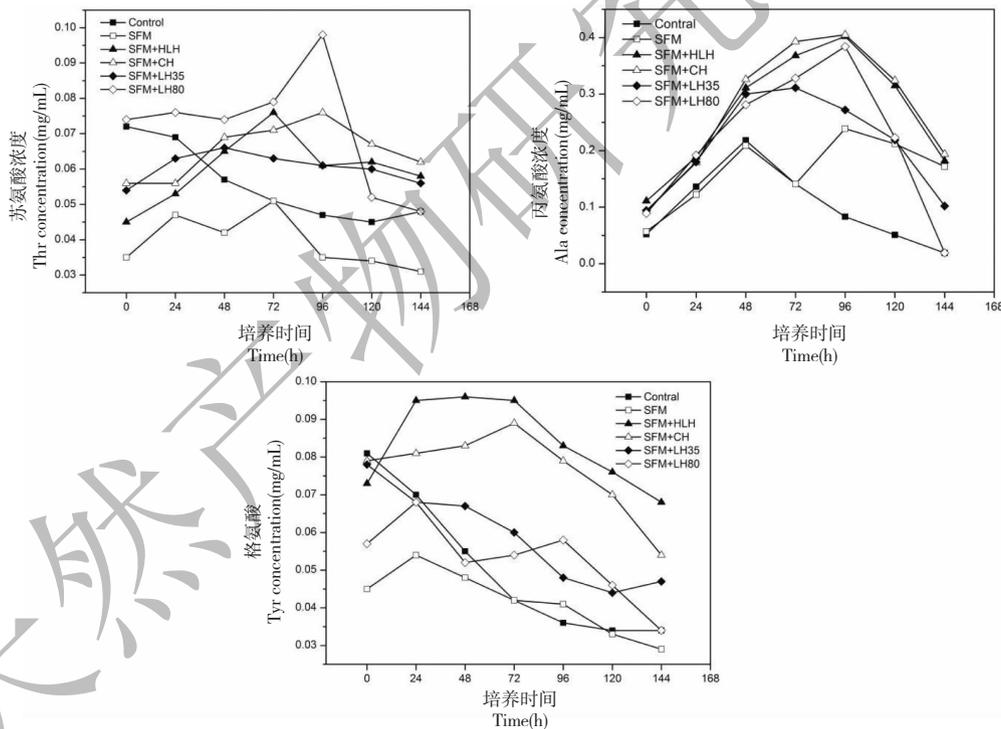


图 5 BHK-21 悬浮细胞在含有水解乳蛋白无血清培养基氨基酸代谢趋势图

Fig. 5 Profiles of amino acids metabolites of BHK-21 cells culture in SFM supplement with different hydrolysates

从苏氨酸代谢图可以看出,不同实验组苏氨酸的浓度有明显的差异。其中质控组苏氨酸为持续消耗的氨基酸,其它组的苏氨酸均为先积累后消耗的氨基酸,在 0~72 h 内含有水解乳蛋白的培养基苏氨酸浓度均有所升高,在 72~96 h 范围内 SFM +

CH 和 SFM + LH80 两组的苏氨酸浓度继续升高,在 96 h 时达到最高值,随后逐渐降低;而 SFM、SFM + HLH 和 SFM + LH35 三组的苏氨酸含量在 72 h 时达到最高值。随后逐渐降低。

从丙氨酸代谢图可以看出,不同实验组丙氨酸

的浓度有明显的差异。其中质控组丙氨酸在 0~48 h 迅速升高,在 48 h 达到最大值,随后逐渐降低;空白组 0~48 h 迅速升高,48~72 h 逐渐降低,在 72~96 h 又有所增加,96 h 达到最大值,随后逐渐降低;含有水解乳蛋白 4 种培养基中丙氨酸的代谢趋势基本相似,在 96 h 达到最大值,随后逐渐降低。

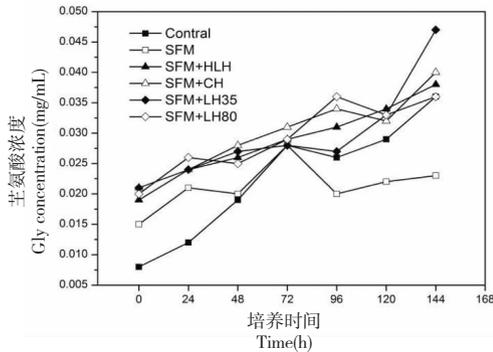


图 6 BHK-21 悬浮细胞在含有水解乳蛋白无血清培养基氨基酸代谢趋势图

Fig. 6 Profiles of amino acids metabolites of BHK-21 cells culture in SFM supplement with different hydrolysates

根据图 6 可以看出,BHK-21 悬浮细胞代谢过程中积累的氨基酸主要有甘氨酸(Gly)和谷氨酸(Glu)两种氨基酸。从甘氨酸代谢图看出,不同实验组甘氨酸浓度有明显的差异。其中质控组甘氨酸的浓度相对较低,在培养 BHK-21 悬浮细胞的整个过程中其含量持续升高;空白组 SFM 在 0~72 h 持续升高,在 72 h 达到最大值,随后降低,而在 96 h 后

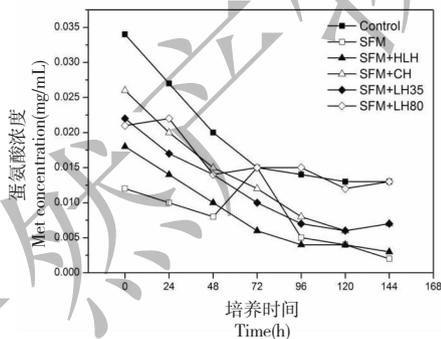


图 7 BHK-21 悬浮细胞在含有水解乳蛋白无血清培养基氨基酸代谢趋势图

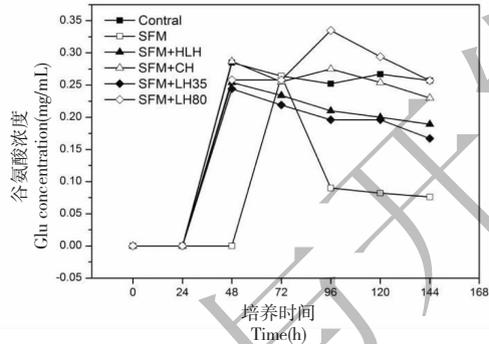
Fig. 7 Profiles of amino acids metabolites of BHK-21 cells culture in SFM supplement with different hydrolysates

根据图 7 可以看出,BHK-21 悬浮细胞代谢过程中快速消耗的氨基酸主要有蛋氨酸(Met)、谷氨酰胺(Glu-NH₂)、胱氨酸(Cys)、缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)和异亮氨酸(Ile)六种氨基酸。

从 Met 代谢图可以看出,不同实验组蛋氨酸的浓度有明显的差异。其中质控组 Met 的浓度相对较高,在 0~72 h 内 Met 消耗比较迅速,随后缓慢降

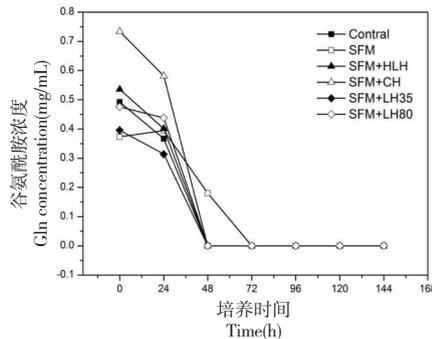
从酪氨酸代谢图可以看出,不同实验组酪氨酸的浓度有明显的差异。其中质控组酪氨酸在 0~48 h 迅速升高在培养期间持续降低;空白组 0~24 h 升高,24 h 达到最大值,随后逐渐降低;含有水解乳蛋白 4 种培养基中酪氨酸的代谢趋势有所不同。

2.5.2 积累氨基酸



逐渐升高;含有四种水解乳蛋白的培养基甘氨酸的含量基本相似,其代谢趋势也基本相似。从谷氨酸代谢图可以看出,不同水实验组谷氨酸的浓度差异不显著。其中质控组和含有 4 种不同水解乳蛋白的是培养基的代谢趋势基本相似,空白组 SFM 有所不同,在 72 h 达到最高值,随后持续降低。

2.5.3 快速消耗氨基酸



低;空白组 SFM 培养基中 Met 的浓度在 0~48 h 内持续消耗,在 48~72 h 又有所升高,随后逐渐降低;含有四种水解乳蛋白的培养基 Met 代谢趋势与质控组基本相似。

从谷氨酰胺代谢图可以看出,不同实验组谷氨酰胺的浓度有明显的差异。其中含有四种水解乳蛋白的培养基中谷氨酰胺含量相对较高,其代谢趋势

与质控组和空白组基本相似,在 0~48 h 内迅速降低至 0 mg/mL。这与生化代谢分析的结果基本一致。

从 Cys 代谢图可以看出,不同实验组谷氨酰胺的浓度有明显的差异。其中质控组中 Cys 的含量较高,在 0~72 h 内 Cys 的含量迅速降低至 0 mg/mL。空白组与含有四种水解乳蛋白的培养基的 Cys 含量基本接近,其代谢趋势基本相似,在 0~24 h 迅速降低至 0 mg/mL。

从 Val、Leu 和 Ile 代谢图可以看出,三种氨基酸的的代谢趋势基本相似。质控组中三种氨基酸的含量较高,代谢趋势为持续降低;空白组 SFM 三种氨基酸均为先生成后降低;含有四种水解乳蛋白的培养基中三种氨基酸的含量略有不同,但代谢趋势基本相似。

2.5.4 缓慢消耗氨基酸

根据图 4-10 可以看出,BHK-21 悬浮细胞代谢

过程中缓慢消耗的氨基酸主要有丝氨酸(Ser)、苯丙氨酸(Phe)、精氨酸(Arg)、赖氨酸(Lys)和组氨酸(His)五种氨基酸。

从 Ser 代谢图可以看出,不同实验组蛋氨酸的浓度有明显的差异。其中质控组 Ser 的浓度相对较高,在 0~72 h 内 Met 消耗比较迅速,随后缓慢降低;空白组 SFM 培养基中 Ser 在 72 h 略有升高,随后缓慢消耗;含有四种水解乳蛋白的培养基 Ser 缓慢消耗,代谢趋势基本相似。

从 Phe 代谢图可以看出,不同实验组蛋氨酸的浓度有明显的差异。其中质控组 Phe 0-72 h 内消耗比较迅速,随后缓慢降低;空白组 SFM 培养基中 Phe 含量较低,其代谢趋势不规律;含有四种水解乳蛋白的培养基 Phe 缓慢消耗,其中 SFM + LH80 的代谢趋势略有不同,其它三种代谢趋势基本相似。

从 Arg、Lys 代谢图可以看出,两种氨基酸的的

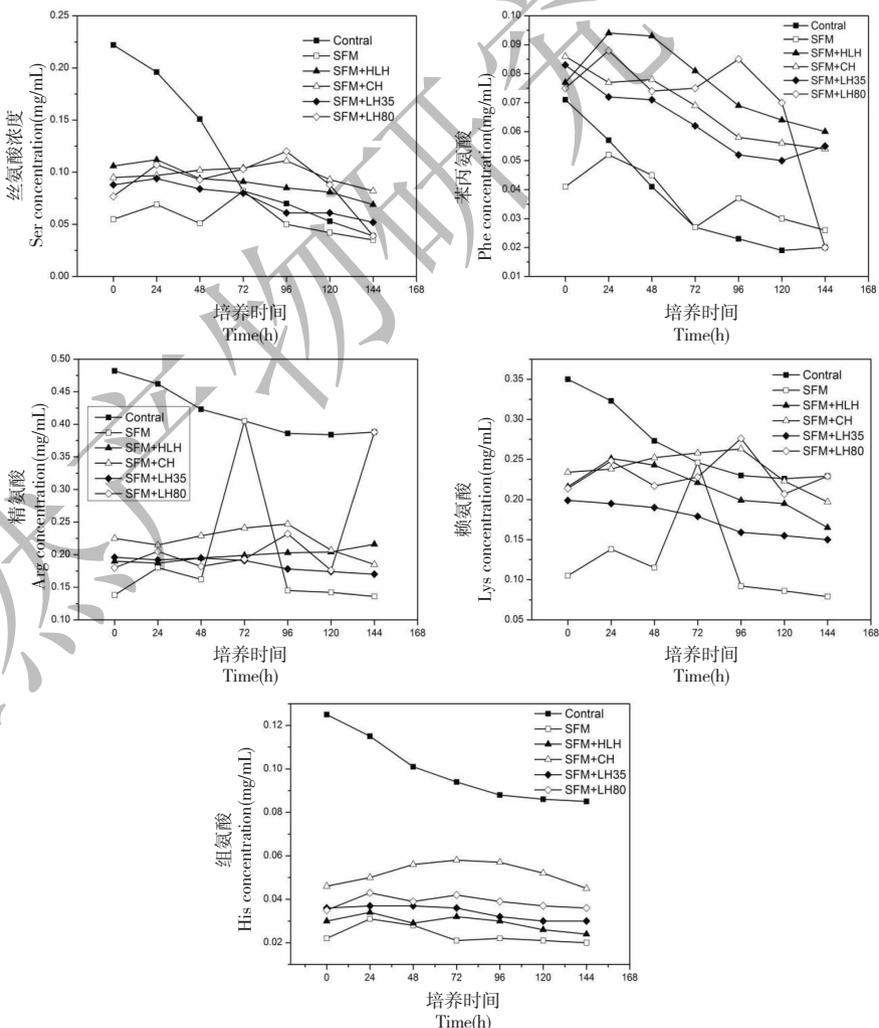


图 8 BHK-21 悬浮细胞在含有水解乳蛋白无血清培养基氨基酸代谢趋势图

Fig. 8 Profiles of amino acids metabolites of BHK-21 cells culture in SFM supplement with different hydrolysates

代谢趋势基本相似。质控组中两种氨基酸的含量较高,代谢趋势为缓慢降低;空白组 SFM 三种氨基酸均为先积累后降低;含有四种水解乳蛋白的培养基中三种氨基酸的含量略有不同,但代谢趋势基本相似。

从 His 代谢图可以看出,不同实验组 His 的浓度有明显的差异。其中质控组 His 的浓度相对较高,在培养过程中缓慢消耗;空白组 SFM 培养基好玩含有四种水解乳蛋白的培养基的 Ser 缓慢消耗,代谢趋势基本相似。

总之,对六组不同的无血清培养基中 16 种氨基酸的代谢情况进行分析,研究表明,不同类型的水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞的氨基酸的代谢均有影响。这可能水解乳蛋白中生物活性肽有关,生物活性短肽进入细胞内可再次分解为氨基酸被利用,从而改变了氨基酸的代谢方式。

3 结论

以酪蛋白为原料所制得的水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞有明显的促细胞生长效果,其促生长效果与 Hyclone 水解乳蛋白没有明显的差异,与两种不同来源的乳清蛋白为原料制得的水解乳蛋白相比较,其促细胞生长效果低于乳清蛋白原性的水解乳蛋白。水解乳蛋白对 BHK-21 悬浮细胞的生化代谢、酶代谢和氨基酸代谢有显著的影响。

参考文献

- 1 Gu RZ(谷瑞增), Liu Y(刘艳), Lin F(林峰), *et al.* Application and research progress of protein hydrolysates in animal cell culture[J]. *Biol Bull*(生物技术通报), 2012, 9:21-27.
- 2 Vijai KP, Arnold LD, Chris H, *et al.* Protein hydrolysates in biotechnology[M]. New York; Springer Dordrecht Heidelberg, 2010.

- 3 Heidemann R, Zhang C, Qi H, *et al.* The use of peptones as medium additives for the production of a recombinant therapeutic protein in high density perfusion cultures of mammalian cells[J]. *Cytotechnology* 2000, 32:157-167.
- 4 Mizrahi A. Primatone in mammalian cell culture media[J]. *Biotechnol Bioeng*, 1977, 19:1557-1561.
- 5 Heidemann R, *et al.* The use of peptones as medium additives for the production of a recombinant therapeutic protein in high density perfusion cultures of mammalian cells[J]. *Cytotechnology*, 2000, 32:157-167.
- 6 Davami F, Eghbalpour F, Nematollahi L, *et al.* Effects of peptone supplementation in different culture media on growth, metabolic pathway and productivity of CHO DG44 cells; a new insight into amino acid profiles[J]. *Iranian Biomedical J*, 2015, 19:194-205.
- 7 Zhang XP(张小莘). Application of carbon source, hormone and hydrolyzed milk protein in mulberry shoot tip culture[J]. *J HB Agr Sci*(河北农业科学), 2000, 1:20-24.
- 8 Guan HB(关海滨), Shi RW(石瑞文), Dong ZH(董至恒), *et al.* Optimizing fermentation medium of *Bifidobacterium longum*[J]. *Chin J Microecol*(中国微生物学杂志), 2014, 26:253-257.
- 9 Tian W(田伟), Feng YP(冯玉萍), Li MS(李明生), *et al.* Preparation of lacto-protein hydrolysate and study on its preliminary application in cell culture[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2014, 26:100-104.
- 10 Burteau CC, Verhoeve F, Mols JF, *et al.* Fortification of a protein-free cell culture medium with plant peptones improves cultivation and productivity of an interferon-gamma producing CHO cell line[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2003, 39:291-296.
- 11 Gao HL(高红亮), Cong W(丛威), Ouyang F(欧阳藩). Amino acid metabolism in vero cell batch culture[J]. *Chinese J Process Eng*(过程工程学报), 2011, 2:176-179.