

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG SỬ DỤNG MÀNG CELLULOSE DO *ACETOBACTER XYLINUM* TẠO RA LÀM GIÁ ĐỠ (SCAFFOLD) NUÔI CÂY TẾ BÀO FIBROBLAST CHUỘT NHẮT TRẮNG

Nguyễn Thị Kim Anh¹, Hoàng Thùy Dương¹, Trần Thị Khánh Hòa¹, Nguyễn Thị Thanh Kiều²

¹Trung tâm R&D, Khu Công nghệ cao Thành phố Hồ Chí Minh

²Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài: 07.4.2016

Ngày nhận đăng: 20.6.2016

TÓM TẮT

Vật liệu có cấu trúc cellulose do vi khuẩn tạo ra – một sản phẩm của công nghệ sinh học, trong những năm gần đây đã được quan tâm nghiên cứu ứng dụng trong lĩnh vực y sinh. Với hệ thống cấu trúc sợi siêu mịn, màng cellulose vi khuẩn có các đặc tính riêng biệt như khả năng giữ nước, mức độ polymer hóa, tính thể hóa, độ tinh khiết và độ bền kéo cao. Trong nghiên cứu này, màng cellulose do *Acetobacter xylinum* tạo ra được kiểm tra các đặc tính về độ bền cơ lý, cấu trúc sợi mịn, có khả năng tương hợp sinh học với mục đích hướng tới sử dụng làm giá đỡ nuôi cấy tế bào trong kỹ nghệ mô. Tế bào fibroblast từ da và xương đuôi của chuột nhắt trắng được nuôi trong môi trường DMEM có bổ sung 10% huyết thanh thai bò và 1% kháng sinh. Sau đó tế bào được gieo vào đĩa nuôi cấy có gắn màng cellulose vi khuẩn. Kết quả nghiên cứu cho thấy kết cấu, độ bền, sự tương hợp sinh học của màng cellulose vi khuẩn phù hợp để sử dụng làm giá đỡ trong nuôi cấy tế bào fibroblast chuột nhắt trắng. Các tế bào có thể bám trải và lan rộng trên đĩa nuôi cấy có gắn màng cellulose vi khuẩn khi so sánh với điều kiện nuôi cấy tế bào thông thường trong đĩa nuôi cấy không gắn màng cellulose sau khi gieo tế bào 1 ngày, 4 ngày và 7 ngày. Kết quả này có thể là cơ sở bước đầu cho các nghiên cứu tiếp theo về việc nuôi cấy tế bào trên giá đỡ cellulose vi khuẩn trong công nghệ nuôi cấy tạo mô.

Từ khóa: *Acetobacter xylinum*, cellulose vi khuẩn, fibroblast, giá đỡ, kỹ nghệ mô

GIỚI THIỆU

Sản phẩm sinh học có cấu trúc sợi cellulose do vi khuẩn tạo ra hiện nay đang được quan tâm nghiên cứu sử dụng trong cấy ghép và làm giá đỡ nuôi cấy tế bào tạo mô nhờ vào các đặc tính nổi bật về sự tương thích sinh học, độ bền cơ lý, hình dạng và cấu trúc hóa học rất riêng biệt và nổi trội của loại vật liệu này.

Cấu trúc cơ bản của màng cellulose do vi khuẩn tạo thành (bacterial cellulose hay BC) là các sợi chứa chuỗi β -1-4 glucan với công thức phân tử là $(C_6H_{10}O_5)_n$. Các chuỗi glucan được liên kết với nhau thông qua các cầu nội (intra) và ngoại (inter) nối Hydro (Ul-Islam *et al.*, 2012). Sợi cấu trúc BC được Muhlehalerin mô tả lần đầu năm 1949 và có kích thước nhỏ hơn 100 lần so với cellulose thực vật (Chawla *et al.*, 2009; Gayathry, Gopalaswamy, 2014). Khác với cellulose thực vật, cellulose vi sinh hoàn toàn không chứa lignin và hemicelluloses.

Một số nghiên cứu gần đây trên thế giới đã cho rằng màng BC có cấu trúc mạng lưới sợi nano tinh

kiết với độ kết tinh cao (Chen *et al.*, 2010; Keshk, 2014), mức độ polymer hóa cao (Dahman *et al.*, 2010), độ bền cơ giới cao (Castro *et al.*, 2011), khả năng giữ nước tốt (Saibuatong, Phisalaphong, 2010) và tương hợp sinh học tốt, là vật liệu rất phù hợp cho việc chữa trị vết thương.

Màng cellulose vi sinh được dùng để điều trị bên trong, như các miếng ghép xương và các kỹ nghệ mô khác và quá trình tái tạo (Duarte *et al.*, 2015). Tính năng nổi bật giúp màng cellulose vi sinh có thể sử dụng trong y tế là có thể dễ dàng bám rất nhiều hình dạng khác nhau mà vẫn duy trì được tất cả các đặc tính có ích của nó. Bằng việc dán màng cellulose vi sinh vào ống rỗng dài, các ống này có thể được dùng để thay thế cho một vài vị trí khác nhau như hệ tim mạch, ống tiêu hóa, niệu đạo hoặc khí quản (Khan *et al.*, 2015; Zang *et al.*, 2015). Gần đây màng cellulose vi sinh đã được ứng dụng trong các ống vi dẫn (stent) và mạch máu nhân tạo (Schumann *et al.*, 2009). Cellulose còn được mô hình hóa thành màng dạng mắt lưới để có thể sử dụng trong các cấu trúc thay thế bên trong cơ thể,

chẳng hạn như màng vô não - lớp màng cứng (dura matter) (Xu *et al.*, 2014). Ngoài việc thay thế, cấu trúc này còn được sử dụng như mảnh ghép để tương tác với vật liệu sinh học ở bên trong.

Sự tương hợp sinh học là một trong những yêu cầu để đánh giá sự an toàn khi sử dụng các thiết bị và vật liệu y sinh. Sử dụng tế bào để kiểm tra sự tương hợp sinh học đối với các dược phẩm, vật liệu sinh học hay các kỹ thuật chẩn đoán ngày càng được coi trọng. Các tế bào thường được sử dụng cho xét nghiệm này thường là các tế bào fibroblast nuôi cấy từ da, niêm mạc miệng, niêm mạc nha chu, tế bào HeLa, tế bào keratinocyte, các dòng tế bào khác nhau từ chuột, cũng như các tế bào nuôi cấy từ gan và lách chuột (Wiegand, Hipler, 2008).

Nghiên cứu này được thực hiện với mục đích khảo sát một số đặc tính của màng BC do *A. xylinum* tạo ra và khả năng sử dụng của màng BC làm giá đỡ nuôi cấy tế bào fibroblast thu được từ chuột nhắt trắng. Đây là nghiên cứu bước đầu cho các nghiên cứu tiếp theo sử dụng vật liệu BC làm giá đỡ trong kỹ nghệ mô.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nuôi cấy vi khuẩn tạo màng BC và xử lý màng

Vi khuẩn *A. xylinum* có khả năng sản xuất màng cellulose được chọn lựa và nuôi cấy tĩnh ở điều kiện 30°C, pH = 6. Thành phần môi trường cho vi khuẩn tạo miếng cellulose bao gồm: đường saccarose (20 g), (NH₄)₂SO₄ (8 g), (NH₄)₂HPO₄ (2 g), nước dừa già (1 lít).

Các miếng cellulose được thu hoạch sau thời gian nuôi cấy trung bình khoảng 14 ngày. Lấy các miếng này ra và rửa sạch bằng nước, sau đó xử lý bằng bồn nước sôi có bổ sung NaOH 4% trong 30 phút để loại bỏ các tế bào vi khuẩn còn bám vào. Rửa kỹ lại bằng nước để loại bỏ NaOH. Ép loại bỏ bớt nước. Tấm BC ướt này sẽ tiếp tục được ngâm trong túi nilon dán chặt có 5 lít nước chứa H₂O₂ 1,5% đã được chỉnh pH = 11 (sử dụng NaOH 0,5%). Túi nilon có chứa tấm BC này sẽ được lắc trong 10 phút và tiếp tục cho vào nước sôi trong khoảng 30 phút đến khi BC chuyển sang màu trắng. Sau khi được làm trắng, BC sẽ được rửa bằng nước và ép với đơn vị 10 tấn/m². Làm khô BC ở nhiệt độ 140°C. Màng BC được hấp vô trùng và đóng gói chân không. Màng BC khô được kiểm tra các đặc tính lý, hóa, sinh học.

Kiểm tra đặc tính cơ lý:

Màng BC được làm khô ở 3 mức độ khác nhau để kiểm tra tỷ lệ H₂O: cellulose có ảnh hưởng tới các đặc tính cơ lý của màng hay không. Tỷ lệ H₂O: cellulose được xác định qua độ dày và trọng lượng. Màng BC được cân lúc ướt, sau đó làm khô trong tủ sấy ở nhiệt độ 50-60°C trong vòng 24 giờ. Công thức xác định tỷ lệ H₂O và tỷ lệ cellulose được tính như sau:

$$\text{Tỷ lệ nước (\%)} = \left[\frac{\text{Trọng lượng màng BC ướt} - \text{Trọng lượng màng BC khô}}{\text{Trọng lượng màng BC ướt}} \right] \times 100$$

$$\text{Tỷ lệ cellulose (\%)} = (100\% - \text{tỷ lệ nước})$$

Mẫu được chuẩn bị với chiều dài 60mm, rộng 10mm, khoảng kéo 40mm và vận tốc kéo là 5mm/phút. Các chỉ tiêu kiểm tra bao gồm: độ bền kéo (strength, MPa), ứng suất tại điểm đứt (strain at break, MPa), biến dạng tại điểm đứt (strain at break, %), và Modul đàn hồi (kéo) (Modulus, MPa).

Kiểm tra cấu trúc sợi cellulose và sự bám trải của tế bào trên vật liệu BC

Kính hiển vi quét (SEM) được sử dụng để phân tích cấu trúc hình dạng của màng BC. Thông qua kỹ thuật chụp SEM, hình dạng bề mặt và lát cắt màng BC cũng như hình ảnh các tế bào bám và xâm nhập vào mạng lưới sợi cellulose có thể quan sát và đánh giá được.

Thí nghiệm đánh giá tính tương thích sinh học của màng BC với tế bào

Thu da và xương đuôi từ chuột nhắt trắng để nuôi cấy tế bào fibroblast. Da và xương đuôi chuột được xử lý bằng trypsin/EDTA 0.25% (Gibco) và cố định trong đĩa nuôi cấy đã được phủ gelatin (Sigma). Tế bào fibroblast từ da bắt đầu xuất hiện sau khi nuôi cấy 1 ngày, trong khi fibroblast từ xương xuất hiện lâu hơn, sau khoảng 5 ngày. Môi trường nuôi cấy sử dụng là DMEM (Gibco) được bổ sung 10% huyết thanh thai bò (FBS, Sigma), 100 U/ml penicillin và 100 U/ml streptomycin. Tế bào nuôi cấy được đặt trong tủ ấm 37°C với 5% CO₂. Hai ngày môi trường nuôi cấy được thay một lần.

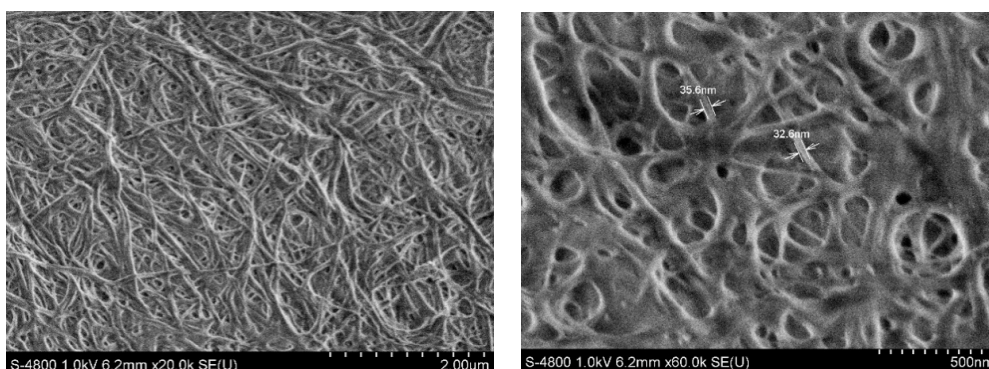
Sau thời gian nuôi cấy từ 7-10 ngày, các tế bào fibroblasts đã bám và lan rộng kín bề mặt đĩa, thu hoạch tế bào với 0,05% trypsin/EDTA, ly tâm với tốc độ 1400 vòng/phút trong 5 phút. Thu tế bào và chuyển vào đĩa nuôi cấy với mật độ 10⁵ tế bào/ml. Đĩa được phủ màng BC được so sánh với đĩa đối

chúng không có màng BC. Cắt màng BC thành miếng tròn, kích thước theo đường kính của đĩa nuôi cấy (đĩa Nunc 35mm). Phủ gelatin trước và gắn miếng màng BC vào đĩa. Đĩa đối chứng không dùng màng BC nhưng có phủ gelatin. Số lượng tế bào được đếm bằng buồng đếm Neubauer, tế bào sống được xác định bằng trypan blue, sau 1, 4 và 7 ngày.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Màng có cấu trúc sợi nanocellulose do *A. xylinum* tạo thành

Miếng BC được tạo thành sau khoảng 5 ngày nuôi cấy có độ dai, chắc, màu trắng và bề mặt mịn. Sau khi xử lý loại bỏ bớt nước, màng BC được kiểm tra dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM). Hình ảnh



Hình 1. Cấu trúc sợi cellulose màng BC chụp dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM).

Một số đặc tính cơ lý của màng BC

Do kết cấu của BC là mạng lưới các sợi cellulose đan xen nên kết cấu của vật liệu mịn và có độ dai chắc. Tuy nhiên, để có thể sử dụng BC làm vật liệu trong các ứng dụng y sinh thì cần xử lý kỹ vật liệu để loại bỏ bớt nước, vi khuẩn và các protein bám trên BC nhưng vẫn đảm bảo những tính chất phù hợp của vật liệu. Trong hầu hết các ứng dụng y sinh, màng BC thường được sử dụng ở trạng thái ướt. Khi đã được làm khô, BC không dễ dàng ngậm nước trở lại. Vì vậy, việc khảo sát các tỷ lệ cellulose khác nhau trong các ứng dụng khác nhau của vật liệu BC cần được tiến hành và đánh giá để tìm ra vật liệu được loại bỏ bớt nước và có cấu trúc cũng như các đặc tính cơ lý phù hợp cho mục đích sử dụng.

Để khảo sát sự ảnh hưởng của tỷ lệ nước/cellulose trong quá trình xử lý tới đặc điểm cơ

cho thấy cấu trúc 3D chặt chẽ được hình thành từ các sợi cellulose kích thước nano (tại một số điểm đo được 32-35 nm) (Hình 1).

Hệ thống sợi của màng BC được hình thành từ các sợi nano sắp xếp chặt chẽ trong không gian ba chiều, tạo thành các tấm hydrogel có bề mặt và độ xốp cao. Vi khuẩn *A. xylinum* có thể tạo cellulose ở cấu trúc bậc I (ribbon-like polymer) và bậc II (thermodynamically stable polymer) (Chawla *et al.*, 2009). Khi xảy ra quá trình tổng hợp, các protofibril của chuỗi glucose được vi khuẩn tiết ra qua vách tế bào và tập hợp lại tạo thành các ribbon cellulose dạng sợi nano (Dahman, 2009; Maria *et al.*, 2010). Cellulose được tổng hợp có bề mặt chứa rất nhiều nhóm hydroxyl nên có đặc tính giữ nước, phân rã sinh học và khả năng biến đổi hóa học (Klemm *et al.*, 2005).

lý của vật liệu, ba tỷ lệ chứa nước 95%, 85% và 55% được lựa chọn để so sánh (Hình 2).

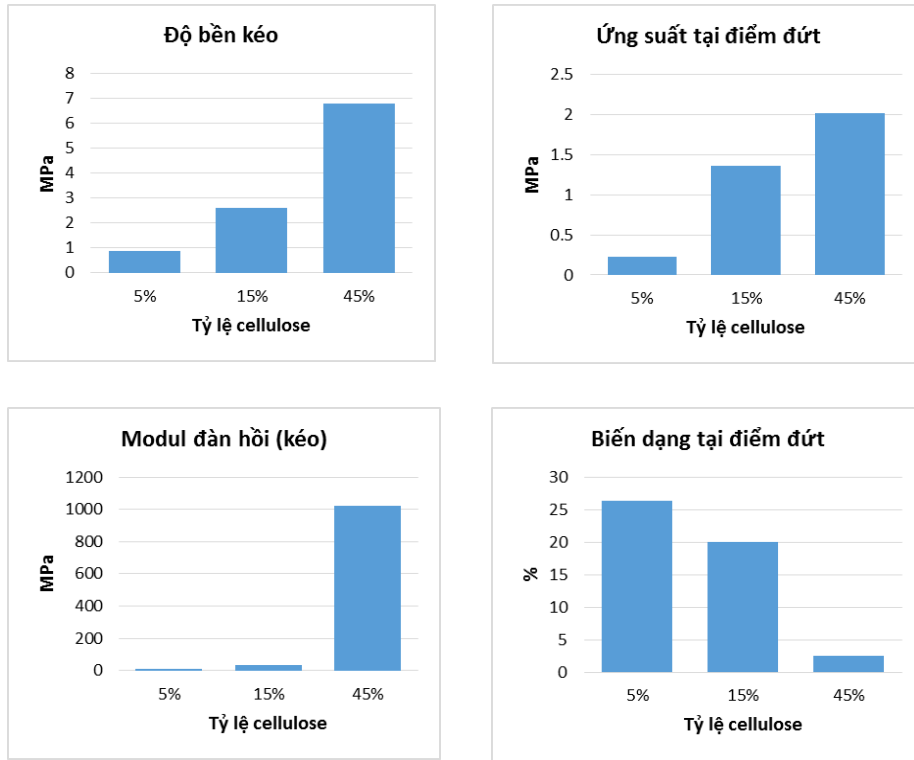
Khi màng được làm khô hoàn toàn (loại bỏ hết nước) để chụp SEM (Hình 2), có thể thấy các sợi cellulose dày đặc, đan xen chằng chịt. Các đặc tính cơ lý thay đổi phụ thuộc vào cấu trúc sợi nano của màng BC. Tỷ lệ cellulose càng nhiều thì màng càng có độ bền dai. Độ bền kéo có thể cao gấp 2 lần khi tỷ lệ cellulose tăng lên 45% so với 15%. Modulus của màng có tỷ lệ cellulose 45% đạt tới 1 GPa, trong khi ở màng có tỷ lệ cellulose $\leq 15\%$ là rất nhỏ.

Scionti (2010) nghiên cứu đặc tính cơ lý của vật liệu BC, khảo sát modulus của màng có tỷ lệ cellulose dao động từ 0,88-92% và kết luận rằng độ bền kéo, ứng suất và modulus thay đổi phụ thuộc vào hàm lượng cellulose của vật liệu. Ở vật liệu có tỷ lệ

cellulose 10, 40 và 92% modulus lần lượt tương ứng là 2 MPa, 738 MPa và 10 GPa.

Kết quả khảo sát trong nghiên cứu này cho thấy

màng BC có tỷ lệ cellulose 45% có modulus 1GPa và màng vẫn đảm bảo độ chắc, bền có thể sử dụng làm vật liệu trong nuôi cấy tế bào.



Hình 2. Khảo sát một số tính chất cơ lý của màng BC với sự thay đổi về tỷ lệ cellulose.

Đánh giá tính tương thích sinh học của màng BC với tế bào

Nuôi sơ cấp tế bào từ tổ chức mô của chuột

Tế bào được khai thác từ chuột theo mô hình của Seluanov *et al.* (2010). Trong quá trình khai thác tế bào, yếu tố vô trùng phải đảm bảo tuyệt đối để tránh nhiễm khuẩn.

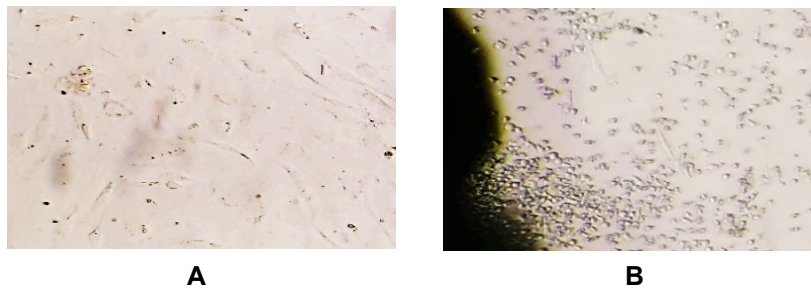
Tế bào fibroblast xuất hiện sau 1-2 ngày ở đĩa nuôi cấy từ mô xương và sau 5 ngày ở đĩa nuôi cấy từ mô da.

So sánh khả năng mọc của tế bào trên màng BC với khả năng mọc và phát triển của tế bào trong đĩa nuôi cấy thông thường

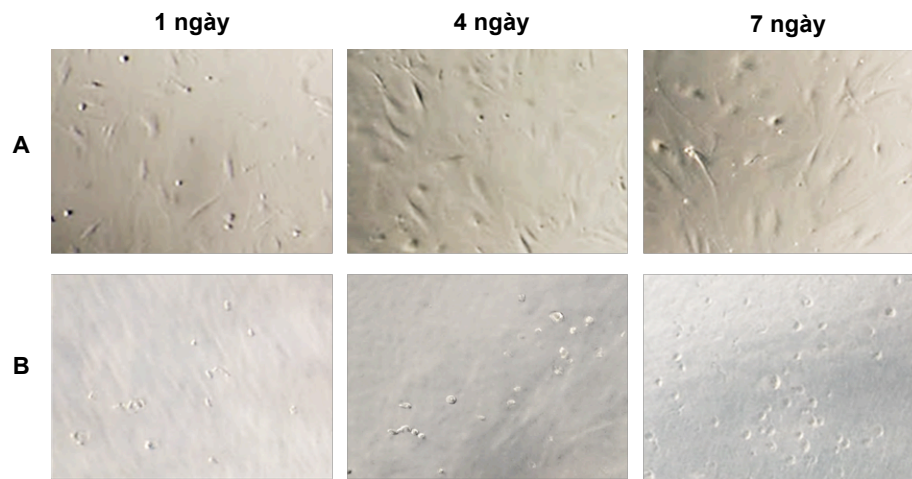
Nuôi cấy tế bào trên màng BC có tỷ lệ cellulose 45%, so sánh với nuôi cấy trên đĩa không có màng

BC, theo dõi khả năng bám và đếm số lượng tế bào sau nuôi cấy 1, 4, 7 ngày.

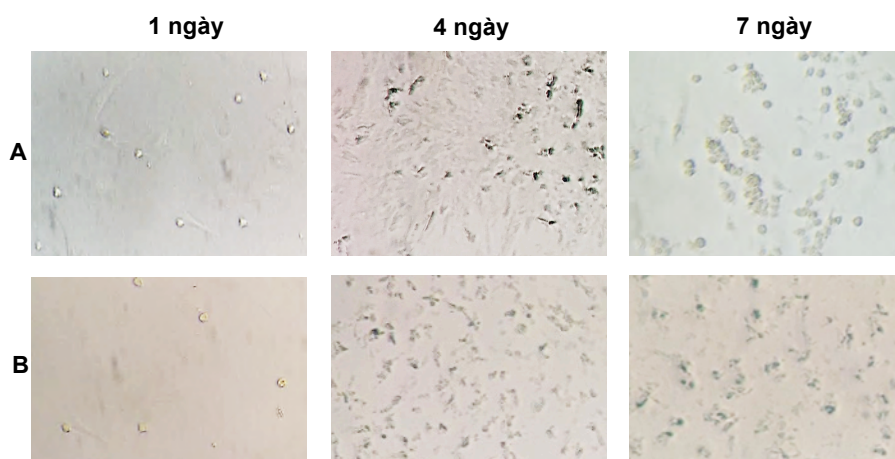
Một số loại tế bào có thể phát triển khi có màng BC như tế bào thận phôi người (HEK) (Grand *et al.*, 2009), nguyên bào xương (osteoblast) (Chen *et al.*, 2009), tế bào sụn (chondrocyte) (Svensson *et al.* 2005), tế bào cơ trơn người (SMC) (Petersen, 2011). Torres *et al.* (2012) cho rằng bề mặt màng BC không phù hợp cho sự bám trải của tế bào fibroblast. Kết quả trong nghiên cứu này thể hiện rõ tế bào fibroblast thu từ da không có hiện tượng bám trải rõ rệt trên bề mặt màng BC (Hình 4), nhưng fibroblast thu từ xương lại bám trải rất tốt và cho hình ảnh tương đương như tế bào nuôi cấy trong đĩa nuôi cấy được phủ gelatin hỗ trợ cho hiện tượng bám của tế bào (Hình 5).



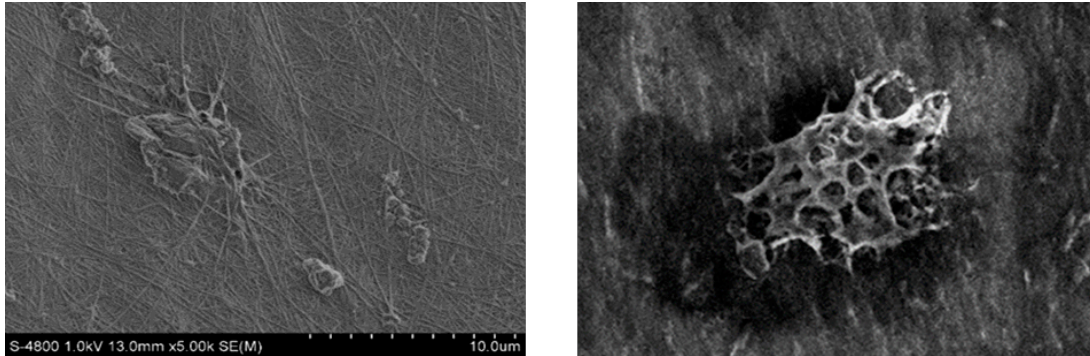
Hình 3. Phân tách tế bào từ da chuột (A) và từ xương đuôi chuột (B) (10x).



Hình 4. Tế bào fibroblast từ da chuột phát triển trong điều kiện nuôi cấy không có BC (A) và có BC (B) sau 1, 4, 7 ngày (10x).



Hình 5. Tế bào fibroblast từ xương đuôi chuột phát triển trong điều kiện nuôi cấy không có BC (C) và có BC (D) sau 1, 4, 7 ngày (10x).



Hình 6. Hình ảnh chụp SEM tế bào bám và xâm nhập vào màng BC.

Phân tích qua kính hiển vi điện tử quét cho thấy hình ảnh tế bào bám và tương thích với mạng lưới cellulose (Hình 6).

Màng BC đã được cấy *in vivo* vào chuột cống để kiểm tra tính tương thích sinh học (Helenius *et al.*, 2006). Tế bào fibroblast xâm nhập vào trong mạng lưới sợi cellulose và không có hiện tượng viêm xảy ra chứng tỏ màng BC có khả năng tương thích rất cao với cơ thể chuột. Kết quả nuôi cấy tế bào *in vitro* trên bề mặt màng BC trong nghiên cứu này cũng cho kết quả tế bào fibroblast chuột nhất trắng hoàn toàn có thể phát triển, bám và xâm nhập vào hệ thống cấu trúc sợi của màng BC. Như vậy, màng BC hoàn toàn có tiềm năng sử dụng làm giá đỡ trong kỹ nghệ nuôi cấy mô.

KẾT LUẬN

Với cấu trúc mịn có kích thước sợi ở mức độ nano, màng cellulose do *A. xylinum* tạo ra có đặc điểm cơ lý bền và tương thích sinh học cao, có thể được sử dụng làm giá đỡ (scaffold) nuôi cấy fibroblast từ chuột nhất trắng. Tế bào fibroblast thu từ xương đùi có khả năng phát triển và bám rất tốt vào màng BC. Kết quả này có thể làm cơ sở cho các thí nghiệm tiếp theo sử dụng BC trong kỹ nghệ mô nuôi cấy tạo mô phục vụ cho các mục đích thay thế, ghép mô trên người.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả chân thành cảm ơn Ủy Ban Nhân dân Thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ kinh phí cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bäckdahl H, Helenius G, Bodin A, Nannmark U, Johansson BR, Risberg B, Gatenholm P (2006) Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells. *Biomaterials* 27(9): 2141–2149.

Castro, C, Zuluaga, R, Putaux, JL, Caro, G, Mondragon, I, Gañán, P(2011) Structural Characterization of Bacterial Cellulose Produced by *bluconacetobacter Swingsii* Sp. from Colombian Agroindustrial Wastes. *Carbohydrate Polymers* 84(1): 96–102.

Chawla, PR, Bajaj, IB, Survase, SA, Singhal, RS (2009) Microbial cellulose: Fermentative Production and Applications. *Food Technol Biotechnol* 47(2): 107–124.

Chen YM, Xi T, Zheng Y, Guo T, Hou J, Wan Y, Gao C (2009) *In vitro* cytotoxicity of bacterial cellulose scaffolds used for tissue-engineered bone. *J Bioact Compat Polym* 24: S137–S145.

Chen, P, Cho, SY, Jin, HJ (2010) Modification and Applications of Bacterial Celluloses in Polymer Science. *Macromolecular Research* 18: 309–320.

Dahman, Y, Jayasuriya, KE, Kalis, M (2010). Potential of Biocellulose Nanofibers Production from Agricultural Renewable Resources: Preliminary Study. *Appl Biochem Biotechnol* 162(6): 1647–1659.

Duarte, EB, Chagas, BS, Andrade, FK, Brígida, AIS, Borges, MF, Muniz, CR, Filho, MSMS, Morais, JPS, Feitosa, JPA, Rosa, MF (2015) Production of hydroxyapatite – bacterial cellulose nanocomposites from agroindustrial wastes. *Cellulose* 22(5): 3177–3187.

Gayathry, G, Gopalaswamy, G (2014) Production and Characterization of Microbial Cellulosic Fibre From *Acetobacter Xylinum*. *Indian J Fibre Textile Research* 39: 93–96.

Grande CJ, Torres FG, Gomez CM, Bañó MC (2009) Nanocomposites of bacterial cellulose/hydroxyapatite for biomedical applications. *Acta Biomater* 5: 1605–1615.

Helenius G, Bäckdahl H, Bodin A, Nannmark U, Gatenholm P, Risberg B (2006) *In vivo* biocompatibility of bacterial cellulose. *J Biomed Mater Res A* 76(2): 431–438.

Keshk, SM(2014) Bacterial Cellulose Production and Its Industrial Applications. *J Bioprocess Biotech* 4: 2.

- Khan S, Ul-Islam M, Khattak WA, Ullah MW, Park JK (2015) Bacterial cellulose-titanium dioxide nanocomposites: nanostructural characteristics, antibacterial mechanism, and biocompatibility. *Cellulose* 22(1): 565–579.
- Petersen N, Gatenholm P (2011) Bacterial cellulose-based materials and medical devices: Current state and perspectives. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 91: 1277–1286.
- Saibuatong, OA, Phisalaphong, M(2010) Novo Aloe Vera – Bacterial Cellulose composite Film From Biosynthesis. *Carbohydrate Polymers* 79(2): 455–460.
- Seluanov A, Vaidya A, Gorbunova V (2010) Establishing primary adult fibroblast cultures from rodents. *J Vis Exp* 44: 2033.
- Svensson A, Nicklasson E, Harrah T, Panilaitis B, Kaplan DL, Bittberg M, Gatenholm P (2005) Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. *Biomaterials* 26: 419–431.
- Schumann DA, Wippermann J, Klemm DO, Kramer F, Koth D, Kosmehl H, Wahlers T, Salehi-Gelani S (2009) Artificial vascular implants from bacterial cellulose: preliminary results of small arterial substitutes. *Cellulose* 16(5): 877–885.
- Scionti G (2010) Mechanical properties of bacterial cellulose implants. *Master of Science Thesis in Biomedical Engineering*. Chalmers University of Technology, Sweden.
- Torres FG, Commeaux S, Troncoso OP (2012) Biocompatibility of bacterial cellulose based biomaterials. *J. Funct Biomater* 3: 864–878; doi:10.3390/jfb3040864.
- Ul-Islam, M, Khan, T, Park, JK (2012) Water Holding and Release Properties of Bacterial Cellulose Obtained by in Situ and ex Situ Modification. *Carbohydrate Polymers* 88(2): 596–603.
- Xu C, Ma X, Chen S, Tao M, Yuan L, Jing Y (2014) Bacterial cellulose membranes used as artificial substitutes for dural deflection in rabbits. *Int J Mol Sci* 15(6): 10855–10867.
- Zang S, Zhang R, Chen H, Lu Y, Zhou J, Chang X, Qiu G, Wu Z, Yang G (2015) Investigation on artificial blood vessels prepared from bacterial cellulose. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 46:111–117.

ASSESSMENT OF BACTERIAL CELLULOSE MEMBRANE PRODUCED BY *ACETOBACTER XYLINUM* USED AS SCAFFOLD FOR MOUSE FIBROBLAST CULTURE

Nguyen Thi Kim Anh^{1,✉}, Hoang Thuy Duong¹, Tran Thi Khanh Hoa¹, Nguyen Thi Thanh Kieu²

¹R&D Center, Saigon Hi-Tech Park, Hochiminh City

²Vietnam National University, Hochiminh City

SUMMARY

In recent years, bacterial cellulose material has been considered as a potential biotechnological product for biomedical applications. Previous studies described some special properties of bacterial cellulose, such as water holding capacity, high polymerization, high crystallization, high purity, and strength. In this study, bacterial cellulose membrane produced by *Acetobacter xylinum* was examined for its possibility to use as a scaffold for cell to grow. Firstly, mechanical properties of bacterial cellulose membrane including strength, stress at break, strain at break, and modulus were analyzed. Secondly, cellulose fiber structure was observed with scanning electron microscope. Lastly, biocompatibility of bacterial cellulose membrane was investigated for application as scaffold for cell culture. The results showed that bacterial cellulose membrane had fine fibres arranged to form 3-D porous structured hydrogel. Also, the mechanical qualities of material were suitable for using as a biomaterial. Fibroblast cells isolated from mouse's skin and tail bone were cultured in Dulbecco's Modified Eagle's Medium supplemented with 10% fetal bovine serum and 1% antibiotics. Cells then collected and sew into bacterial cellulose membrane placed in cell culture disk. At different time points at 1 day, 4 days, and 7 days after sowing the cells, it is clearly seen that cells can adhere, grow and expand on the surface of cellulose membrane placed on cell culture disk, as comparable as cells cultured in disk without cellulose membrane. In conclusion, bacterial cellulose membrane is a suitable material for cell culture as a scaffold. The results observed from this study might be suggestions for next investigations on using bacterial cellulose membrane as scaffold for tissue engineering.

Keywords: *Acetobacter xylinum*, bacterial cellulose, fibroblast, scaffold, tissue engineering

✉ Author for correspondence: E-mail: anh.nguyenthikim@shtplabs.org