

- ⊕ **高倍数：** day28 > 10万倍
- ⊕ **高数量：** day21天2000亿左右
- ⊕ **高纯度：** 高效版CD3⁺CD56⁺ > 98%
增强版CD3⁺CD56⁺ > 90%
CD16⁺CD56⁺ > 90%
- ⊕ **高活率：** 细胞活率 > 90%
- ⊕ **低成本：** 每份NK制剂生产成本是原来的1/3-1/5
- ⊕ **异体用：** CD3⁺细胞 < 1%，满足异体使用
- ⊕ **纯因子：** feeder free, GMP 生产, DMF备案号

华辰生物——是您专业的选择!



hyperClone NK扩增原理及核心技术简介

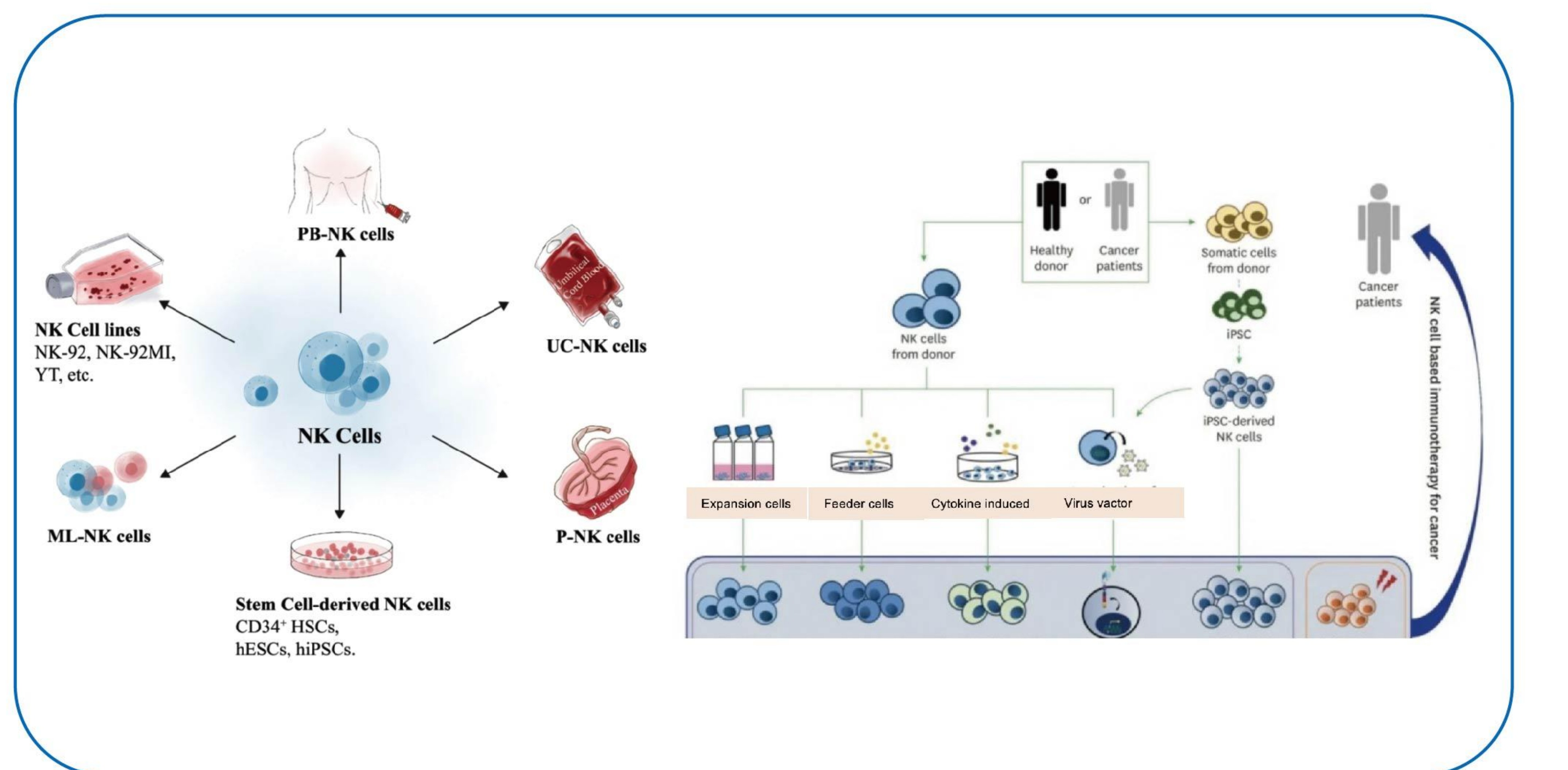
HUACHEN hyperClone NK- kit 整合了 NK 细胞活化与扩增所必须的重要信号通路因子，以及维持和延长 NK 细胞活性的关键细胞因子，因此能够高效扩增并活化高纯度的NK细胞，是纯蛋白因子方法大量制备具有肿瘤杀伤活性的NK细胞的强大工具。



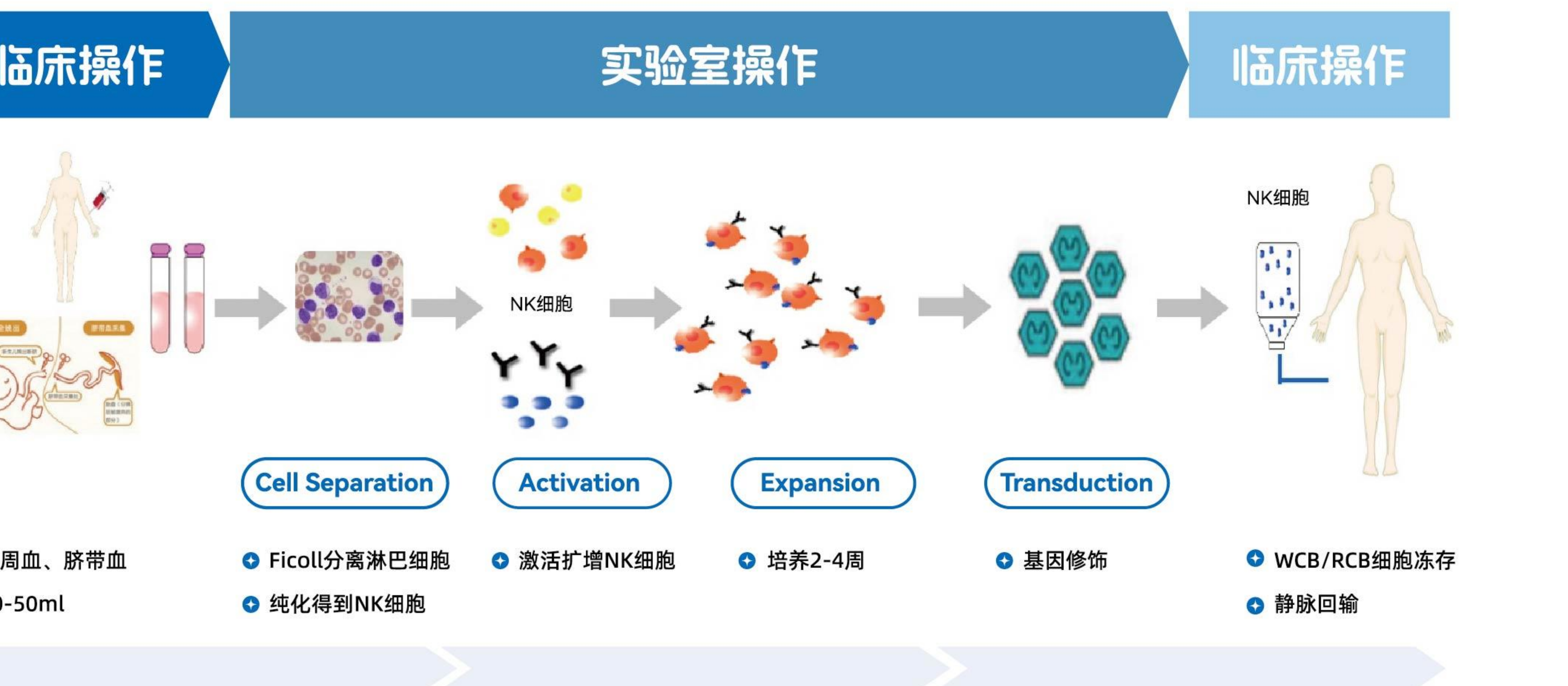
hyperClone NK 细胞纯蛋白因子体外扩增试剂盒，无需 feeder cell，可高效高纯度扩增 NK细胞，满足自体或异体 NK 细胞应用，化学成分明确，符合 GMP 标准，可以支持 NK 细胞药品申报。

NK细胞来源

适用于外周血和脐带血，新鲜血样和冻存细胞皆可。

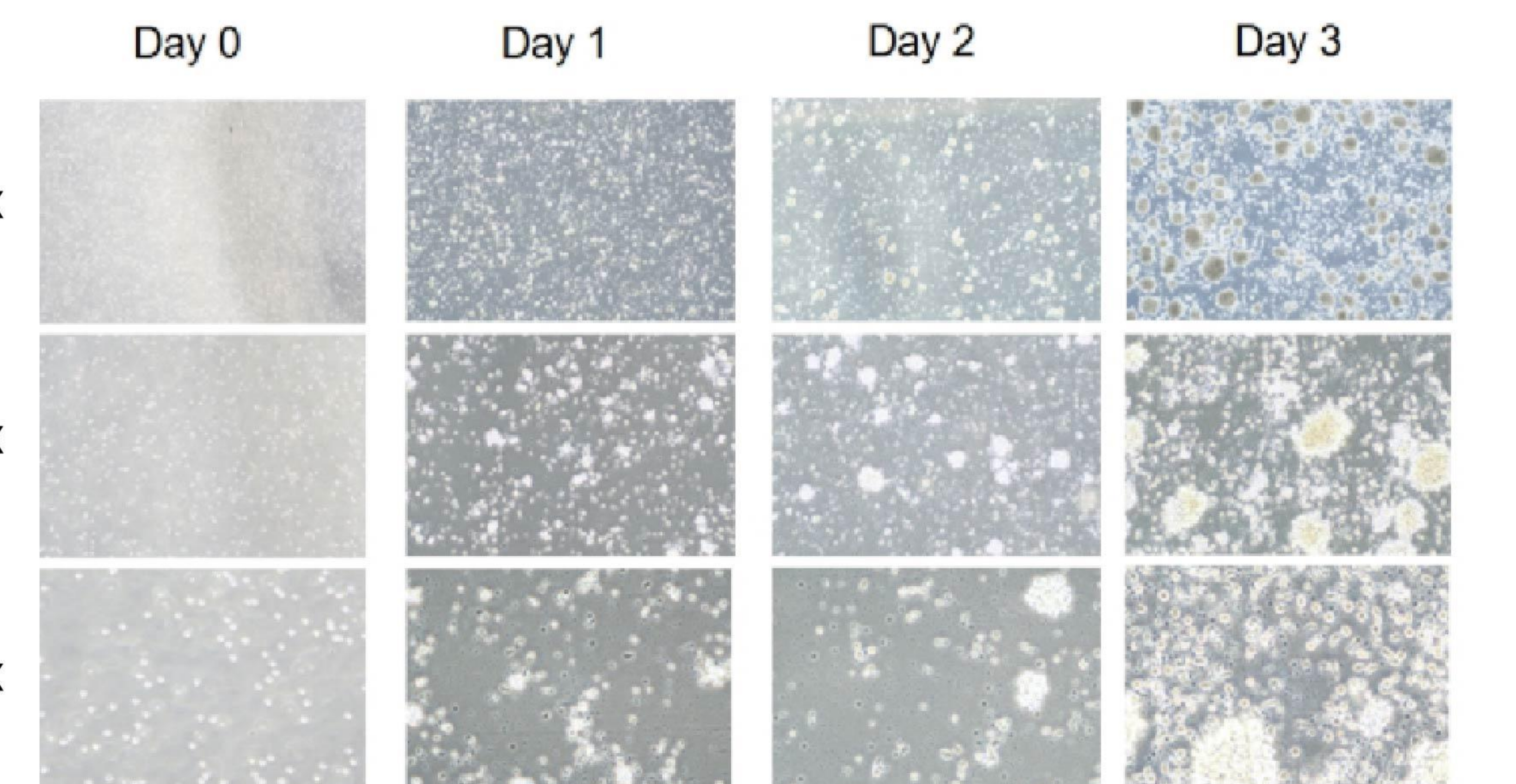


NK细胞应用操作流程

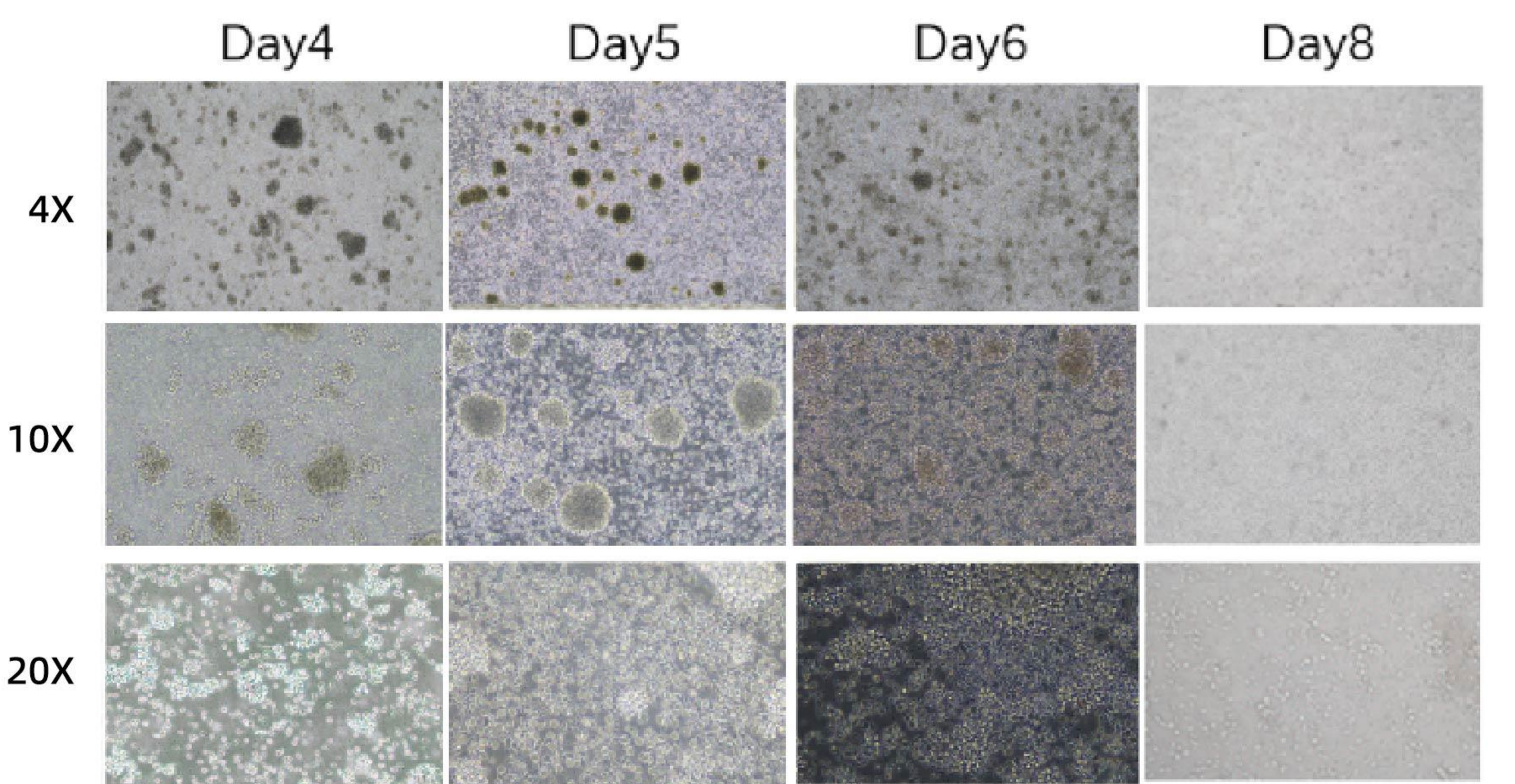


数据展示

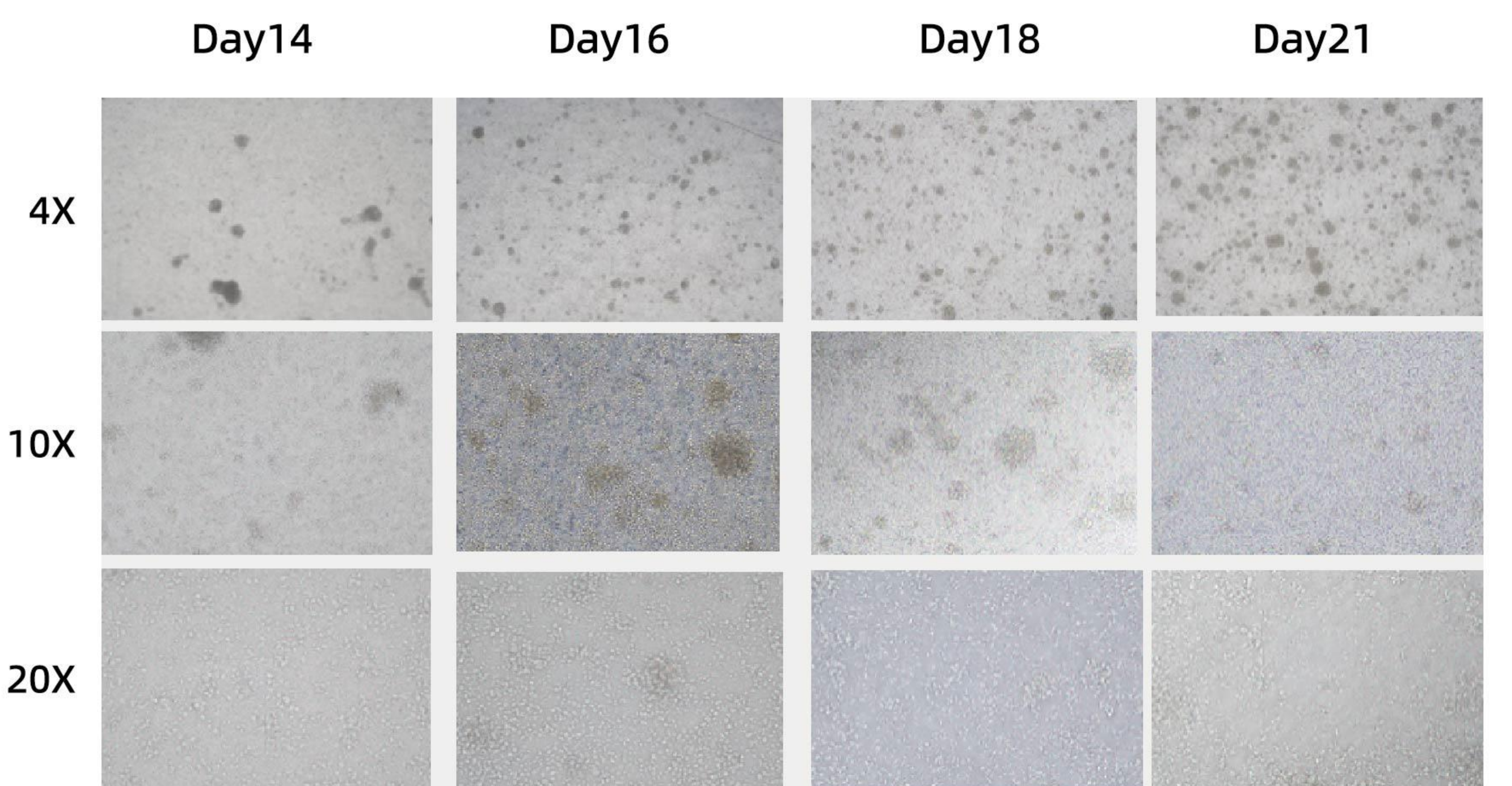
实例一：PBNK细胞生长扩增情况



接种后前三天典型细胞增殖照片



d4-d6每天培养瓶补液, d7/d8入袋



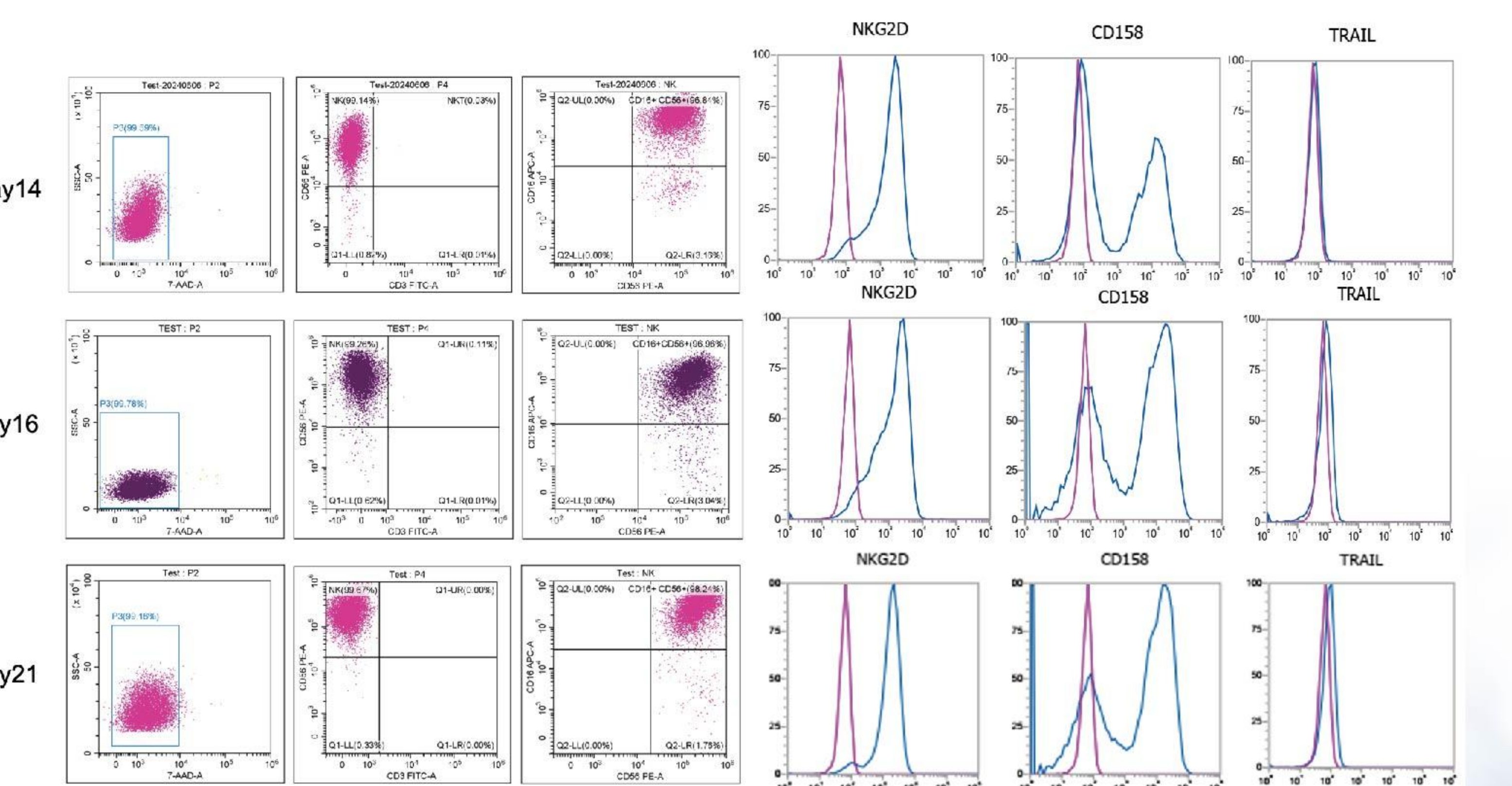
培养至d21天, 培养袋中细胞照片

NK细胞扩增数量和扩增倍数



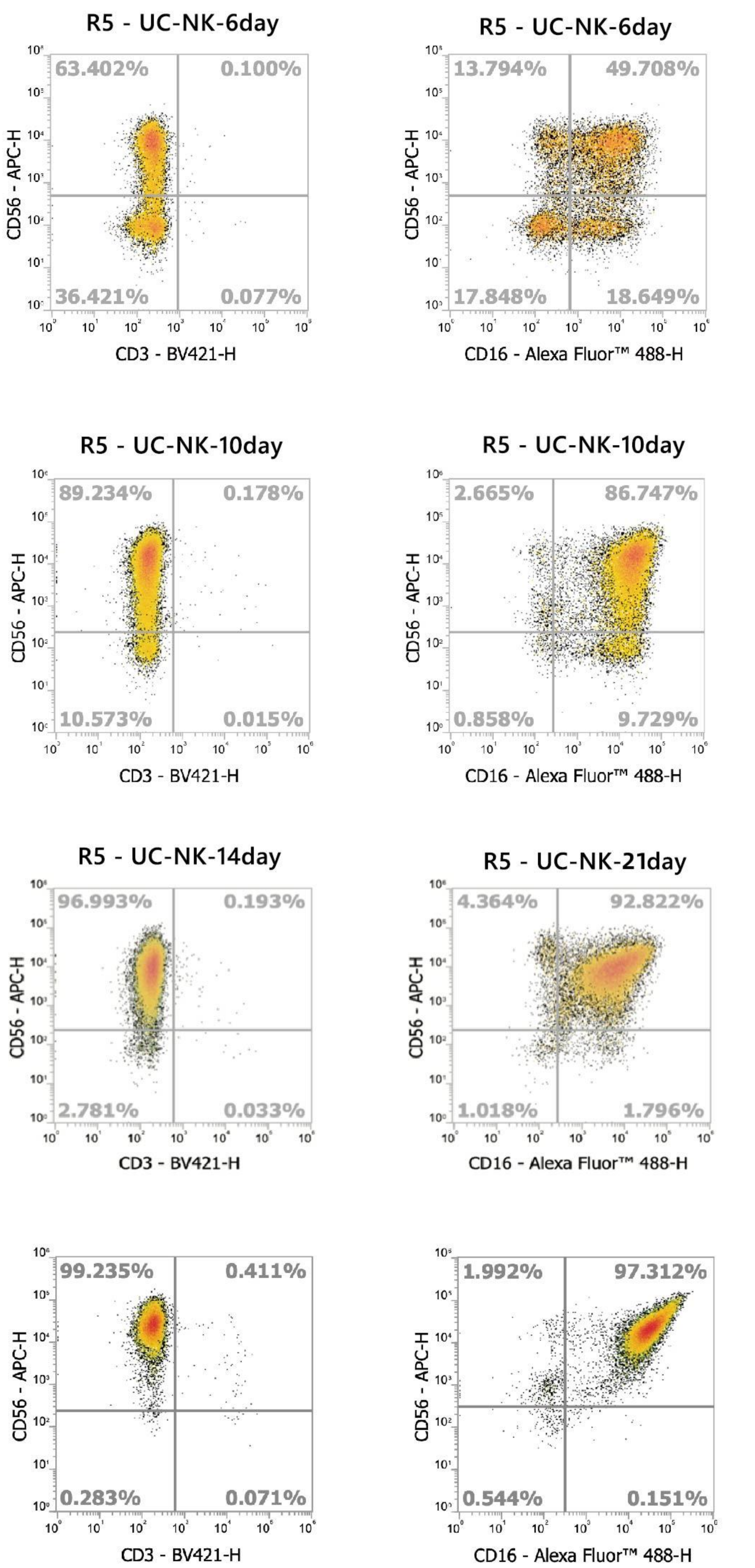
PBNK	DAY0	DAY6	DAY8	DAY9	DAY10	DAY12	DAY14	DAY16	DAY18	DAY20	DAY28
换算细胞总数 (个)	8.98E+06	2.31E+08	6.90E+08	2.60E+09	4.47E+09	8.64E+09	1.84E+10	3.36E+10	6.67E+10	1.52E+11	8.99E+11
扩增倍数		26	77	290	498	962	2049	3742	7428	16927	100111
补液后体积		450ml	900ml	1500ml	3L	6L	12L	24L	48L	96L	300L

PBNK细胞扩增表面marker表达变化



PBNK	7-AAD-(活率)	CD45+	CD3-	CD3-CD56+	CD16+	CD56+CD16+	NKG2D	NKP44	NKP46	KIR	TRAIL
DAY6	98.86%	99.39%	97.99%	94.19%	46.51%	45.189%	45.86%	0.66%	51.29%	27.15%	1.370%
DAY8	98.17%	98.48%	99.68%	95.68%	64.75%	63.288%	90.26%	1.94%	54.18%	31.64%	0.347%
DAY10	93.69%	99.55%	98.53%	97.39%	87.82%	86.876%	91.13%	5.17%	68.99%	40.48%	1.917%
DAY14	99.59%	99.62%	99.96%	99.14%	96.84%	96.84%	90.88%	8.42%	72.95%	50.46%	0.200%
DAY16	99.78%	99.42%	99.88%	99.26%	96.96%	96.96%	90.53%	37.12%	77.26%	60.13%	2.265%
DAY21	99.16%	98.64%	99.99%	99.67%	98.24%	98.24%	93.15%	64.19%	79.78%	62.89%	1.275%

实例二：CB-NK扩增效果



脐带血NK细胞，培养21天，得细胞数量3.2E11，扩增20000倍。

NK细胞纯度

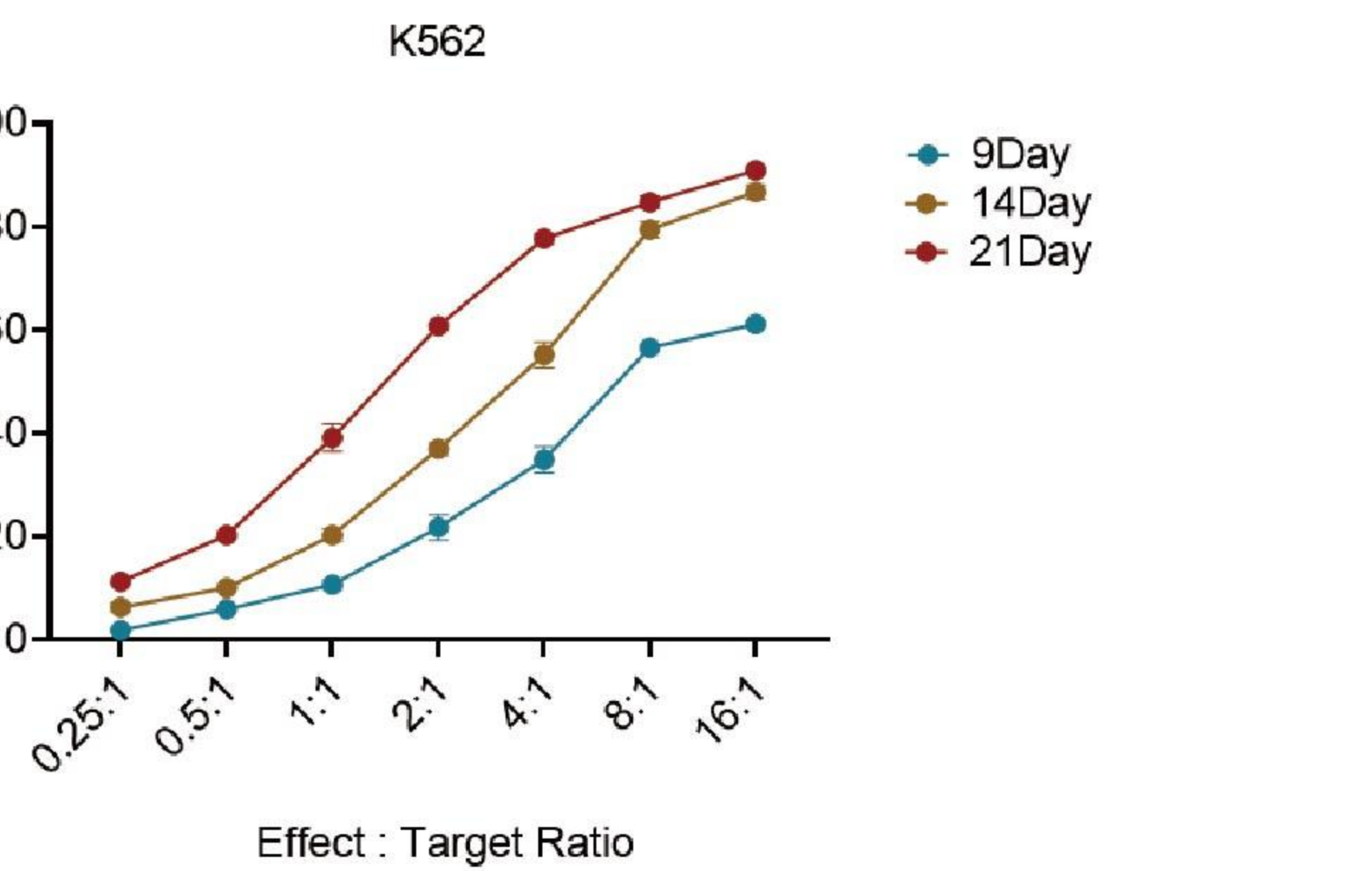
CD3⁺CD56⁺细胞含量

CD16⁺CD56⁺细胞含量

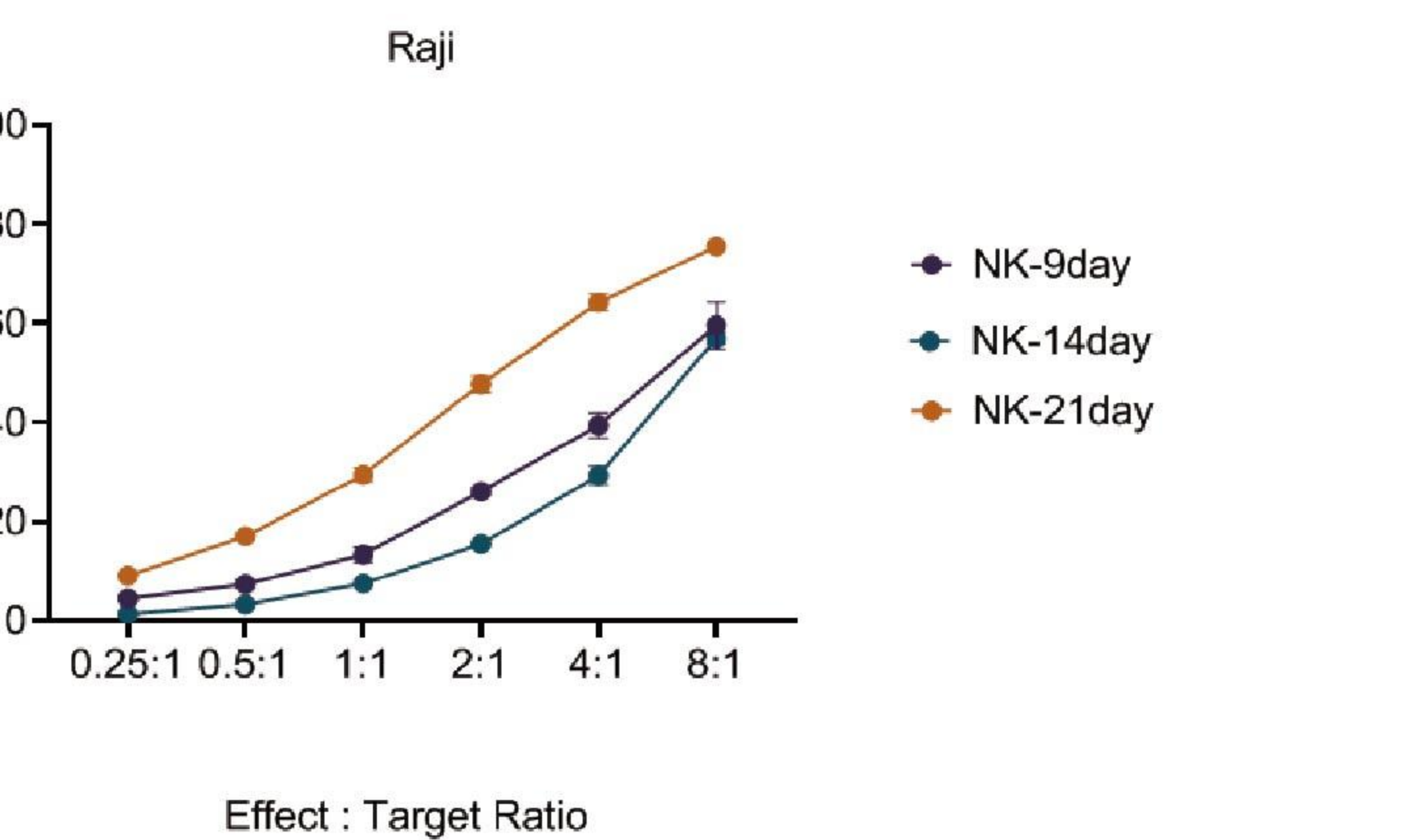
如按照1E9每剂NK细胞量，则可以获得320份可供异体使用的NK细胞。

NK细胞杀伤能力检测

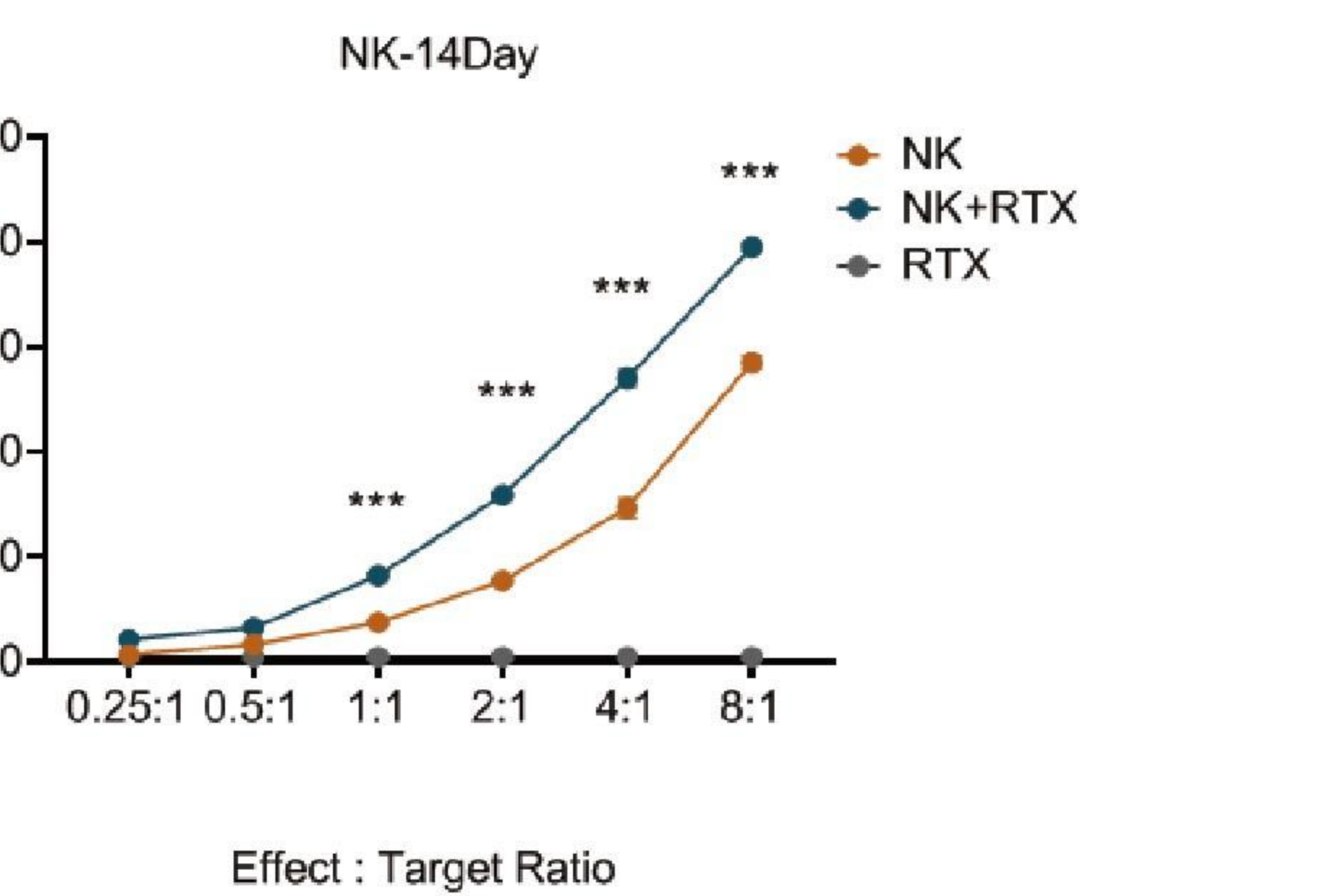
数据展示——K562杀伤能力



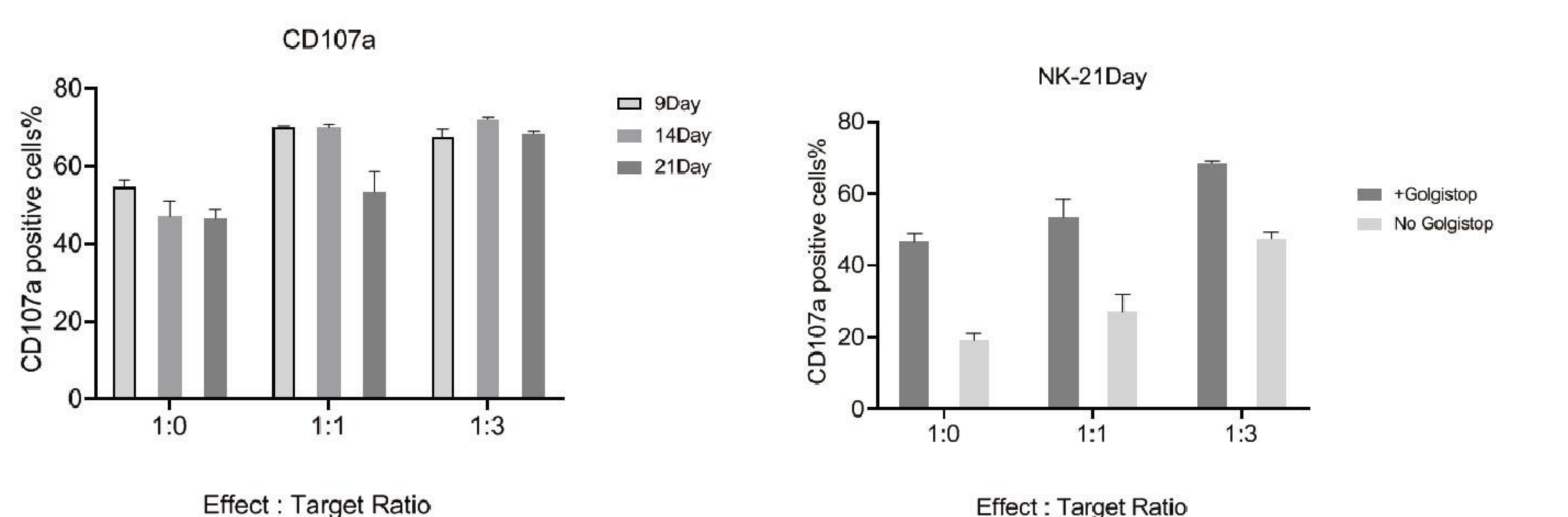
数据展示——Raji杀伤能力



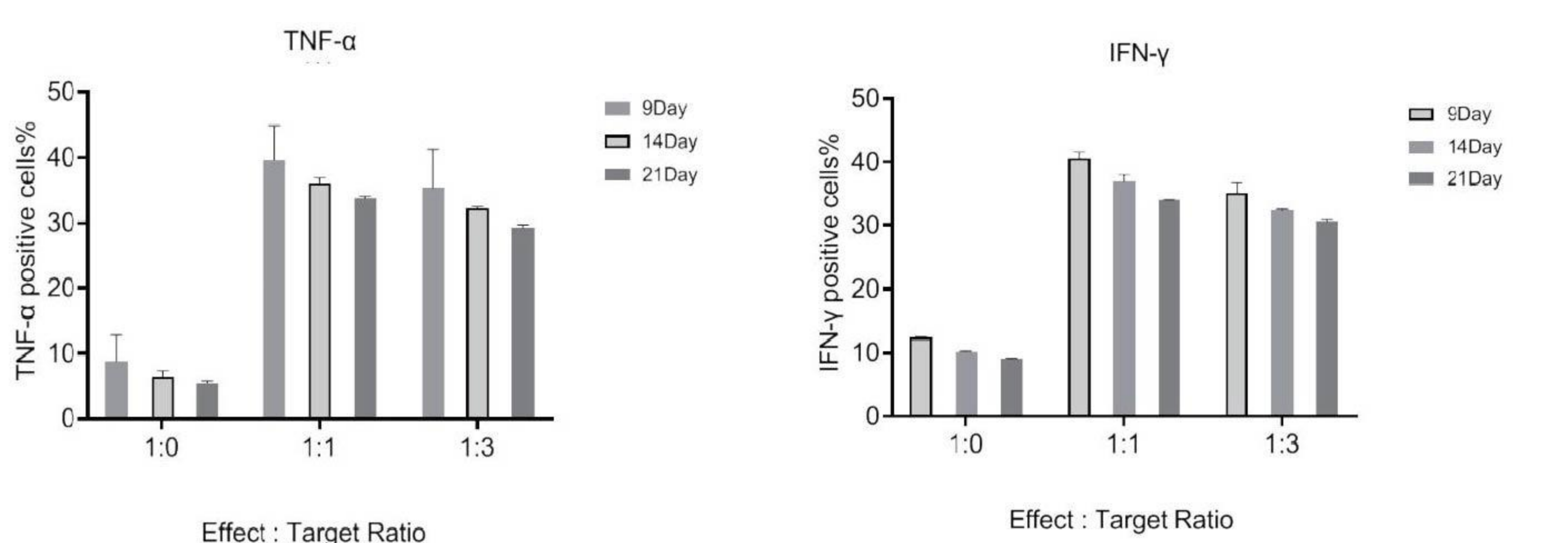
数据展示——ADCC:Raji杀伤能力 Rituximab: 5ug/ml, 共孵育4h



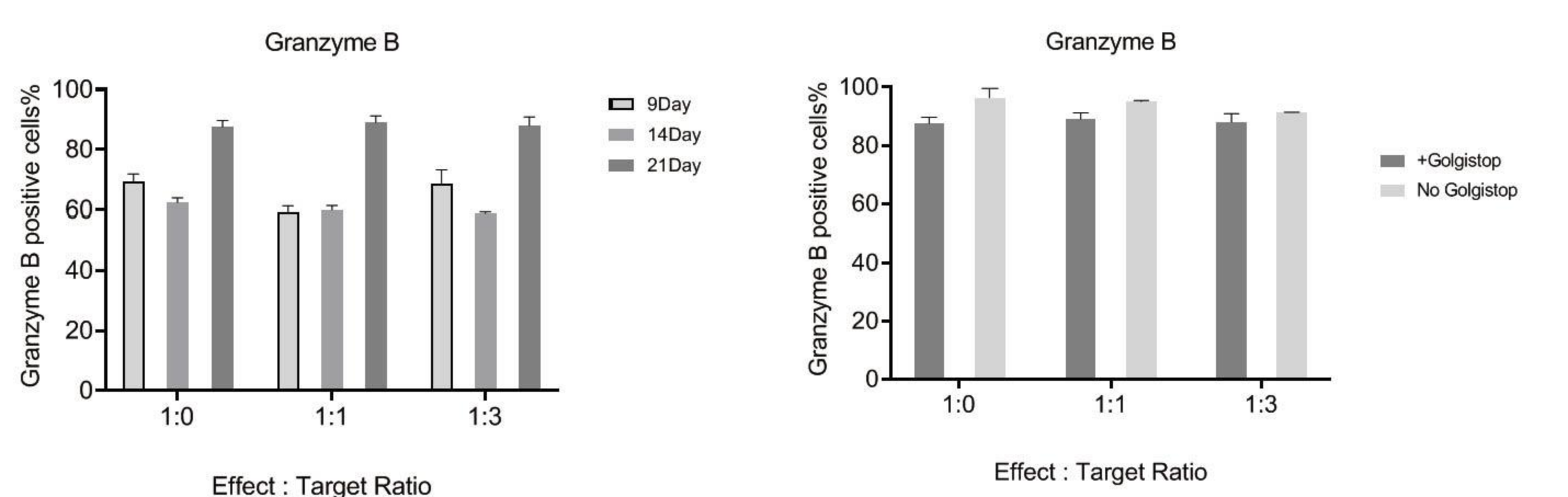
数据展示——因子和杀伤介质分泌：CD107a



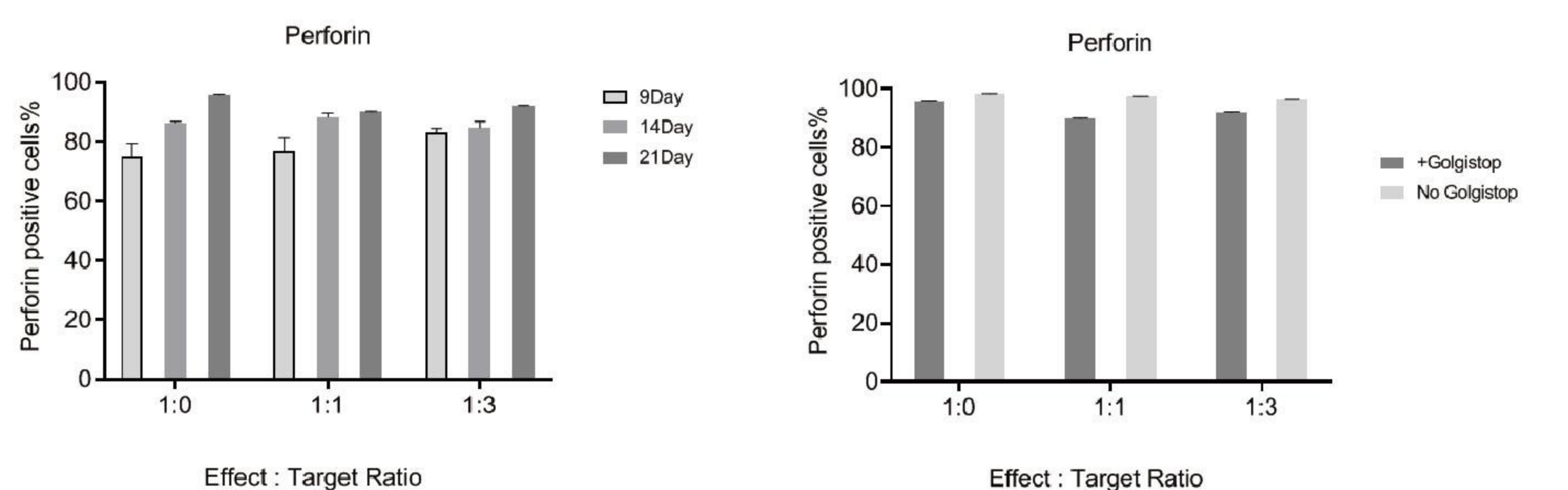
数据展示——因子和杀伤介质分泌：TNF-α、IFN-γ



数据展示——因子和杀伤介质分泌：Granzyme B



数据展示——因子和杀伤介质分泌：Perforin



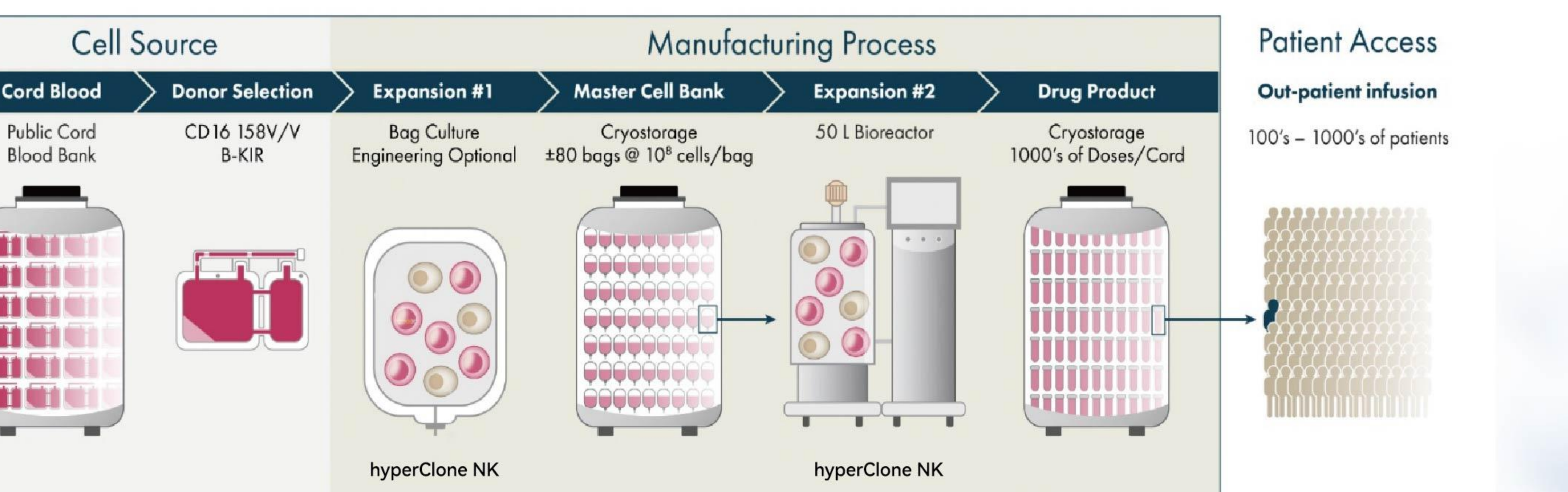
异体NK使用——脐带血NK建库筛选和配型

- ◆ CD16a 158V/V (东亚人概率约10%)
- ◆ HLA无需配型
- ◆ KIR激活型B型KIR以及供者-受体 KIR-HLA mismatch

Donor selection

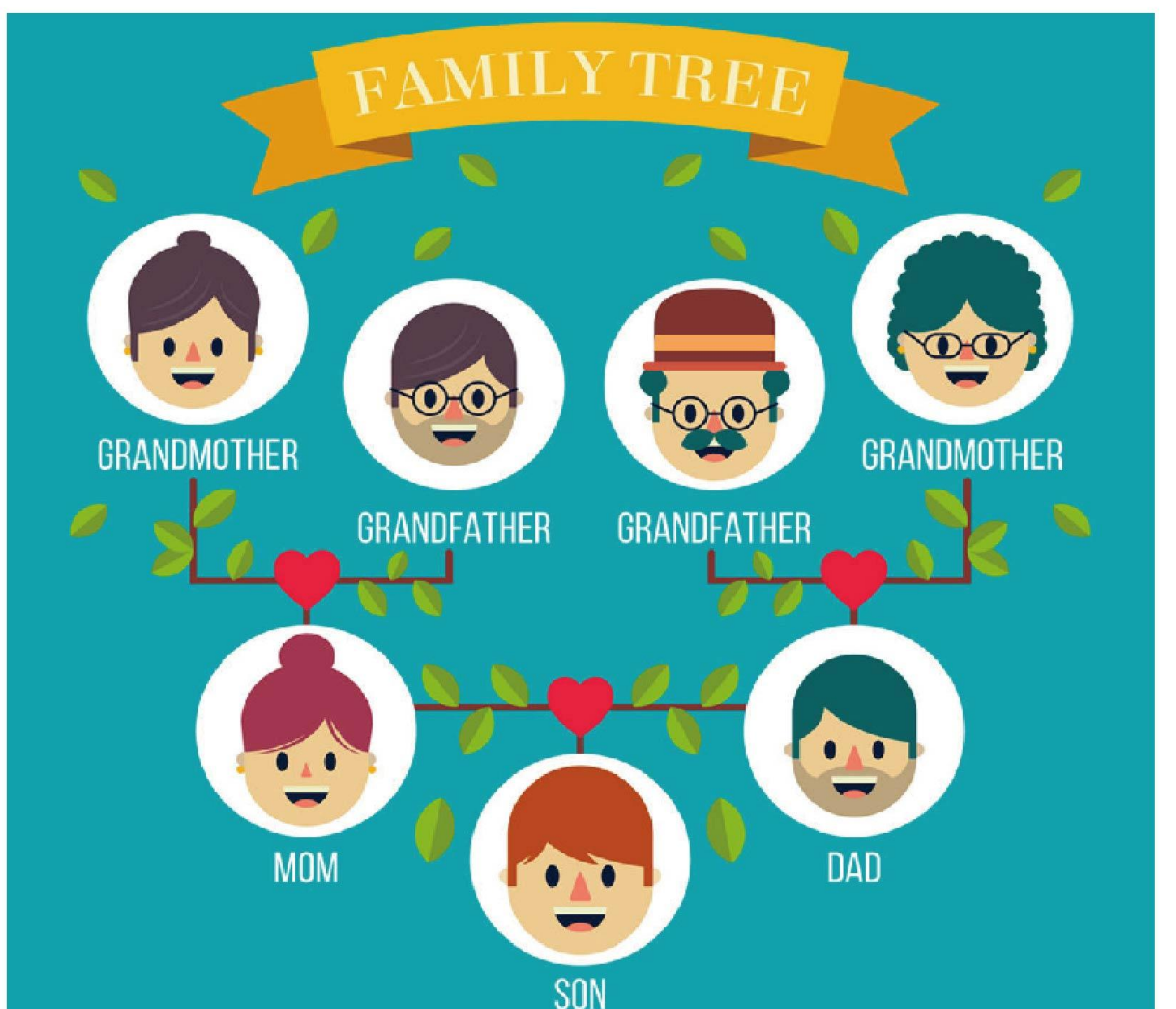
CMV⁻ CMV⁺
 CMV⁺ superdonor with single-KIR⁺ NKG2C⁺ adaptive NK cells

异基因NK细胞疗法——细胞治疗的未来已来



hyperClone NK kit可支持高密度长时间培养，支持获得大量高纯度高活性的异基因NK细胞现货制剂。

基于HUACHEN-NK细胞创新型应用策略 ——家族NK细胞保健



家族NK细胞保健：

- 由家族里面的年轻人捐献50ml血样；
- 实验室扩增培养建立120支种子库；
- 每次复苏一支种子库可以供家族成员NK细胞保健一次；
- 每年每人两次计算，可以满足家族10年使用。
- 年轻的血缘亲属，细胞活性更好，更易接受。



基于HUACHEN-NK细胞创新型应用策略 ——高净值个人NK细胞保健



高净值个人NK细胞保健：

- 身体调理到较佳状态，采血50ml；
- 实验室扩增活化，50支种子库细胞存储；
- 每年两次各取一支NK种子库细胞，每年回输两次；
- 可以满足个人25年使用。
- 自体细胞，体外活化，高纯度。后续可以满足基于细胞的基因修饰治疗。

十大产品优势

10
十大产品优势

01

高扩增倍数

纯因子试剂盒经14-28天培养，NK细胞数可扩增 > 100000倍



02

高纯度，双90%

终产品：
CD3⁺CD56⁺ > 95%
CD16⁺CD56⁺ > 90%



03

高活率 > 90%



04

低CD3⁺比率

终产品中，CD3⁺细胞 < 5%，大部分 < 2%，可满足异体回输需求



05

肿瘤杀伤活性高

4h对靶细胞的杀伤度达到90%以上



06

体内存活时间长

超过30天



07

操作简单

无需特殊设备即可完成，简单易上手，使科研人员经过简单培训都能简易获得高纯度大量NK细胞



08

培养成功率高

大于90%的样本可轻松获得高纯度质量合格的NK细胞



09

国产化，供货稳定

细胞因子和NK专用培养基都已实现国产化，可以大量稳定供应



10

GMP level, 支持NK细胞药物申报

NK培养试剂盒和专用培养基按照GMP规范进行生产，可支持药物申报要求



NK细胞培养操作概要

时间	血浆/血替比例	培养基体积	操作	备注
Day-1			T25包被	Coating Factor Cocktail
Day0	10%	10mL	50mL外周血分离，纯化计数，激活，接种，流式	外周血体积：50mL 接种细胞量：2~20E6 Purification Factor Cocktail Stimulation Factor Cocktail 1 10ml基础培养基
Day2			观察、拍照记录	
Day3	10%	30mL	T25转T75，加20ml完全培养基，加2mL血浆和20uL Stimulation Factor Cocktail 2	配制扩增完全培养基： 1L novaNK-20培养基+ 20ml Basic Medium Supplement+ 1支 Expansion Factor Cocktail; 解冻: Stimulation Factor Cocktail 2, 1000X
Day4	5%	90mL	T75转T175，补加60ml完全培养基，3mL血浆和60uL Stimulation Factor Cocktail 2	用扩增完全培养基和 Stimulation Factor Cocktail 2
Day5	5%	150mL	补加60ml完全培养基，3mL血浆和60uL Stimulation Factor Cocktail 2	用扩增完全培养基和 Stimulation Factor Cocktail 2
Day6	1%	450mL	T175转入袋，补液300mL，补加3mL血浆，排出气泡并夹紧	用扩增完全培养基培养袋折叠培养
Day8		900mL	补液450ml，展开培养	完全培养基等量补液
Day9		1500ml	补加完全培养基600ml	
Day10		3L		隔天等量补液
Day12		6L	1:1补液扩袋	隔天等量补液
Day14		12L	取样，计数，流式，杀伤实验，1: 1补液扩袋	可收获细胞，流式Marker
Day16		24L	1:1补液扩袋	隔天等量补液
Day18		48L	1:1补液扩袋	隔天等量补液
Day21			细胞收获，计数，流式，杀伤实验，	d21天可收获1200亿-1500亿左右细胞
备注	根据细胞需求量，可以持续培养到d28天。自d14天之后到d28天，每天可以根据客户细胞需求情况决定是否部分收获细胞，满足客户即时需求，无需等待。			
	1、外周血自体血浆用完后可以不用再添加血替； 2、脐带血全程用血替，如果要大量培养整个培养过程都建议后期维持1%的血替添加量。 3、如果要测试长期扩增效果，可以从d14天之后，取75ml细胞悬液到T175培养瓶，模拟长时间大规模培养的效果，进行换算得到d28天的数据。 4、d20日之前入袋后，隔天补液细胞密度调整至补液后1-1.2E6；d20天之后间隔2天补液一次，或细胞密度调整至补液后1.3-1.5E6			

华辰生物：核心技术平台



培养基开发平台
化学成分限定培养基组分筛选程序
3D微载体干细胞培养优化模拟程序
一体化细胞智能制造系统管理平台



自主知识产权核心技术平台



整体解决方案
干细胞3D微载体大规模培养工艺
NK细胞大规模培养工艺

订购信息

	产品名称	产品货号	产品规格	备注
试剂盒	hyperClone Fresh-cell 新鲜血样来源NK细胞高效版激活扩增培养试剂盒	hyperCloneNK-HCkit03	1Kit, 2L体系	①纯细胞因子试剂盒, 非feeder Cell; ②14-28天培养扩增, NK细胞数可扩增大于10万倍; ③高效新鲜版纯度可达 > 98%, 满足异体回输要求; 增强新鲜版纯度 > 90%, 自体回输更佳更有性价比; 冻存版本纯度达70-90%, 满足自体冻存多次回输; ④高CD16 ⁺ CD56 ⁺ 表达, 结合抗体疗法, 优势发挥NK细胞ADCC作用; ⑤试剂盒2L体系, 如需大量扩增只需补充扩增试剂组; ⑥外周血和脐带血均适用。
	hyperClone Cryo-cell 冻存单个核细胞来源NK细胞高效版激活扩增培养试剂盒	hyperCloneNK-HCkit02	1Kit, 2L体系	
	EnhancedClone Fresh-cell 新鲜血样来源NK细胞增强版激活扩增培养试剂盒	hyperCloneNK-HCkit05	1Kit, 2L体系	
	EnhancedClone Cryo-cell 冻存单个核细胞来源NK细胞增强版激活扩增培养试剂盒	hyperCloneNK-HCkit04	1Kit, 2L体系	
扩增试剂组	NK细胞无血清培养基	novaNK-20	1000ml/bottle	完全培养基: 一瓶1000ml novaNK-20基础培养基 + 20ml添加物 Basal Medium Supplement + 1.5ml 扩增因子 Expansion Factor Cocktail.
	Basal Medium Supplement	HC-01-S	20ml/bottle	
	Expansion Factor Cocktail	HC-02-E	1.5ml/tube	

- 适用于原代细胞分离及传代培养
- 兼容多种间充质干细胞, 如脐带、脂肪、骨髓等
- 无血清, 无任何动物源组分, 不含抗生素, 性能稳定, 批间差异小
- 高细胞扩增率, 单个代次扩增倍数达20倍以上
- 单个T175细胞收获>2E7
- 细胞直径14-15um, 小于市场同类产品
- GMP level, 注射用水配制
- 自主研发与生产体系, 供货稳定, 性价比高



novastem-MSC
间充质干细胞无血清培养基
Serum-Free Medium For Mesenchymal Stem Cell

- 无血清, 不含血小板裂解物
- 无动物源成分
- 无人源成分, 含重组人血白蛋白
- 化学成分明确, 批间高度一致性
- 高效性, 高效促进MSCs扩增
- GMP规范生产, 支持药物申报
- 更高质量, 内毒素<0.1EU/ml



StarMedium
新一代间充质干细胞化学成分限定培养基
Chemically Defined Medium For Mesenchymal Stem cell

产品系列

- 无血清
- 无动物源成分
- 即用型
- cGMP制造
- 非程序降温
- 无蛋白
- 无DMSO
- 化学成分明确
- 临床注射级成分
- 80°C与-196°C兼容



适用于细胞和组织的生物保存介质
无血清细胞冻存液
Serum-free Cell Freezing Medium

- 明胶成分柔性多孔结构设计
- 粒径大小在150-250um之间, 形态圆润
- 可以进行温和消化, 10分钟内消化完成
- 所有原料来源于药用辅料GMP级别生产
- 已经过辐照灭菌, 可以直接使用
- 支持球转球
- 适用于多种贴壁细胞



3D StarPore™ 微载体
3D StarPore gelatin dissolvable porous microcarrier for cell culture