

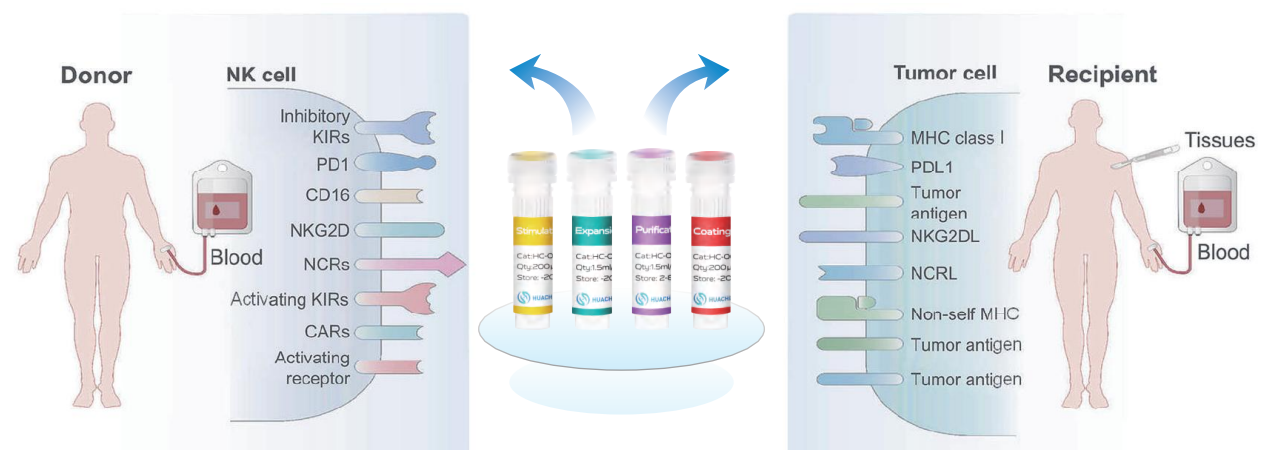
- ✦ **高倍数：** day28 > 10万倍
- ✦ **高数量：** day21天2000亿左右
- ✦ **高纯度：** 高效版CD3⁺CD56⁺ > 98%
增强版CD3⁺CD56⁺ > 90%
CD16⁺CD56⁺ > 90%
- ✦ **高活率：** 细胞活率 > 90%
- ✦ **低成本：** 每份NK制剂生产成本是原来的1/3-1/5
- ✦ **异体用：** CD3⁺细胞 < 1%，满足异体使用
- ✦ **纯因子：** feeder free，GMP 生产，DMF备案号

华辰生物——是您专业的选择!



hyperClone NK扩增原理及核心技术简介

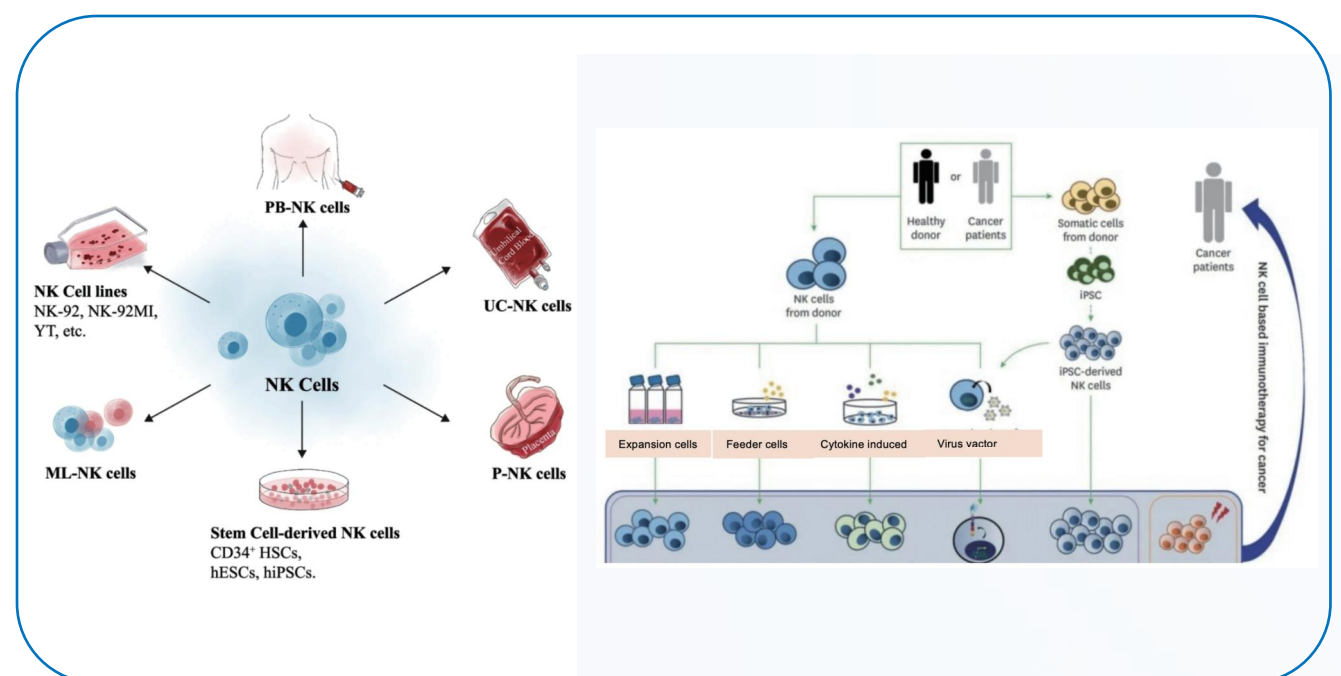
HUACHEN hyperClone NK-kit 整合了 NK 细胞活化与扩增所必须的重要信号通路因子，以及维持和延长 NK 细胞活性的关键细胞因子，因此能够高效扩增并活化高纯度的NK细胞，是纯蛋白因子方法大量制备具有肿瘤杀伤活性的NK细胞的强大工具。



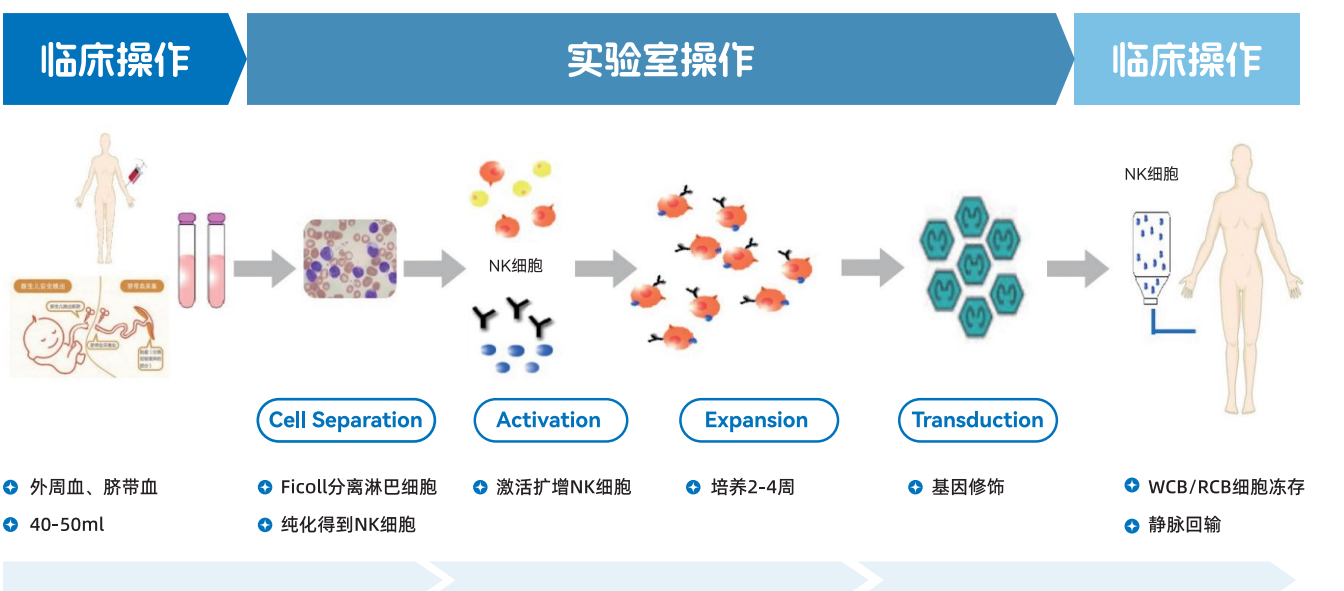
hyperClone NK 细胞纯蛋白因子体外扩增试剂盒，无需 feeder cell，可高效高纯度扩增 NK细胞，满足自体或异体 NK 细胞应用，化学成分明确，符合 GMP 标准，可以支持 NK 细胞药品申报。

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。

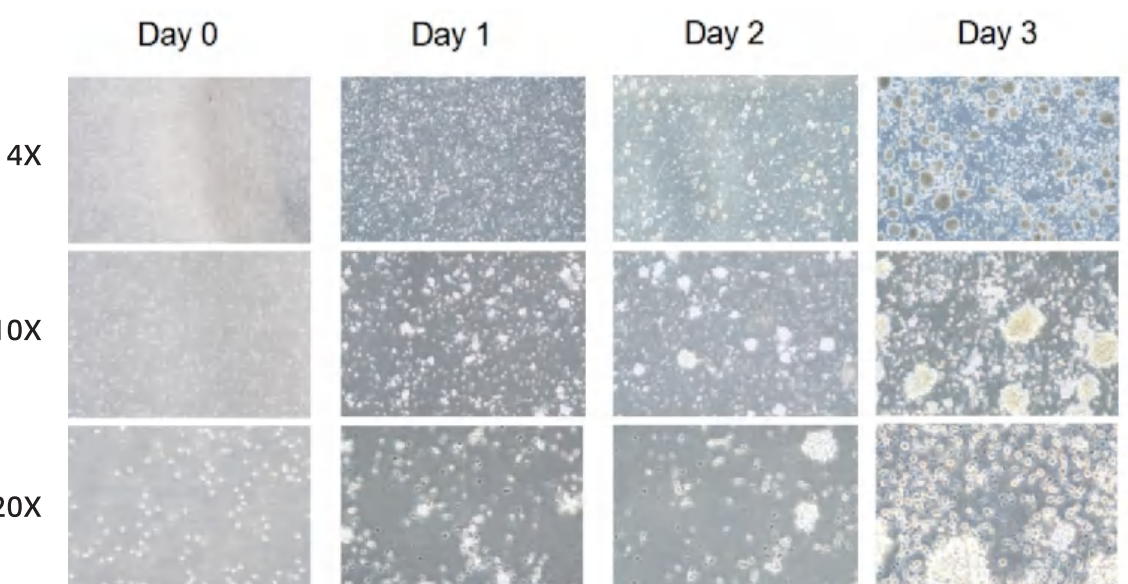


NK细胞应用操作流程

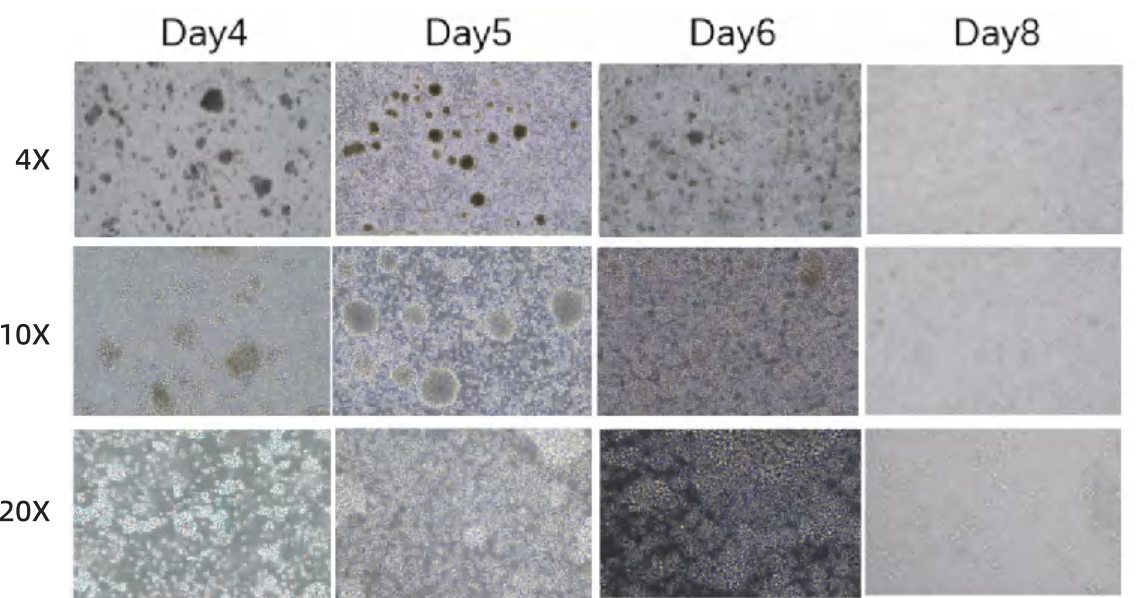


数据展示

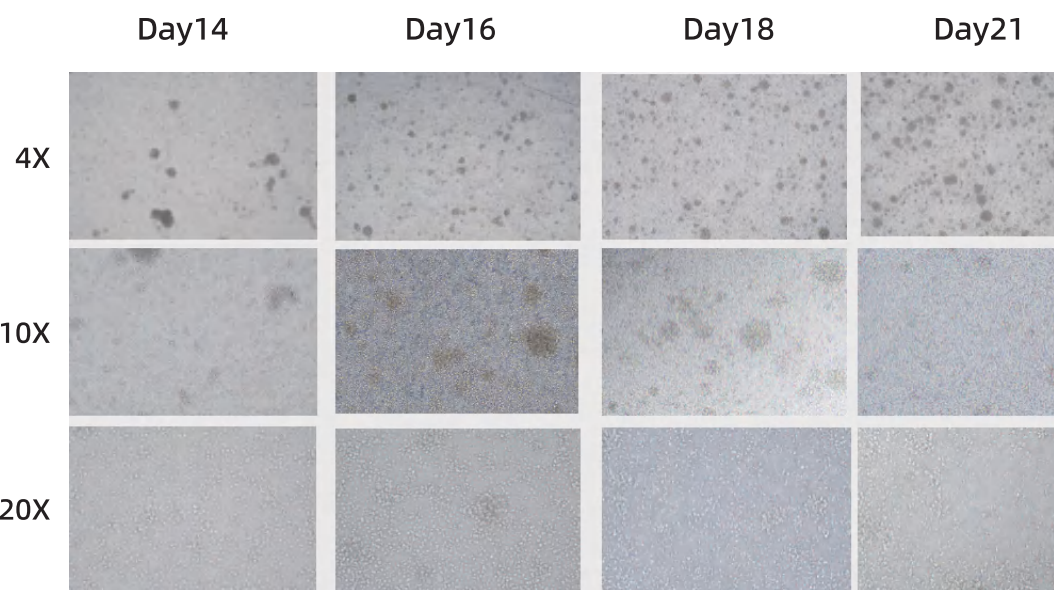
实例一：PBNK细胞生长扩增情况



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

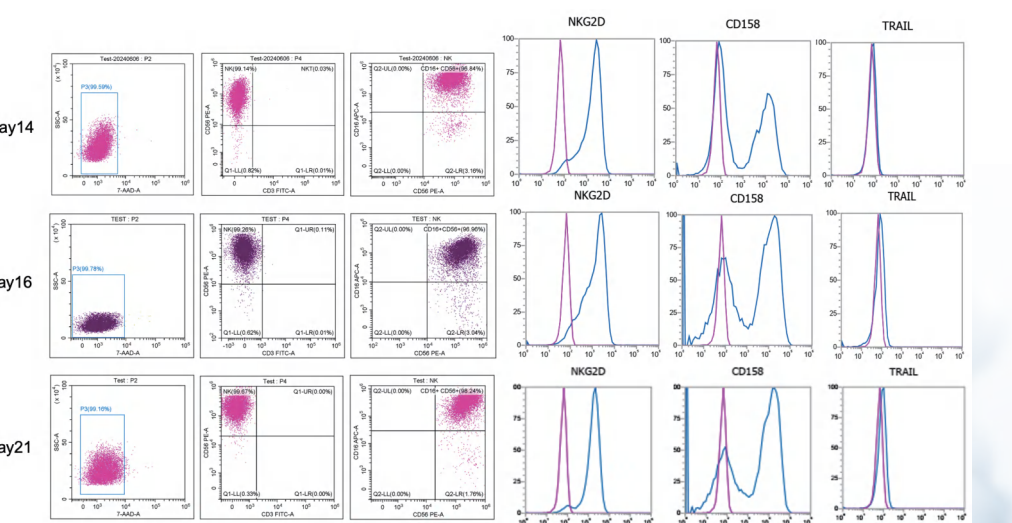


培养至d21天, 培养袋中细胞照片



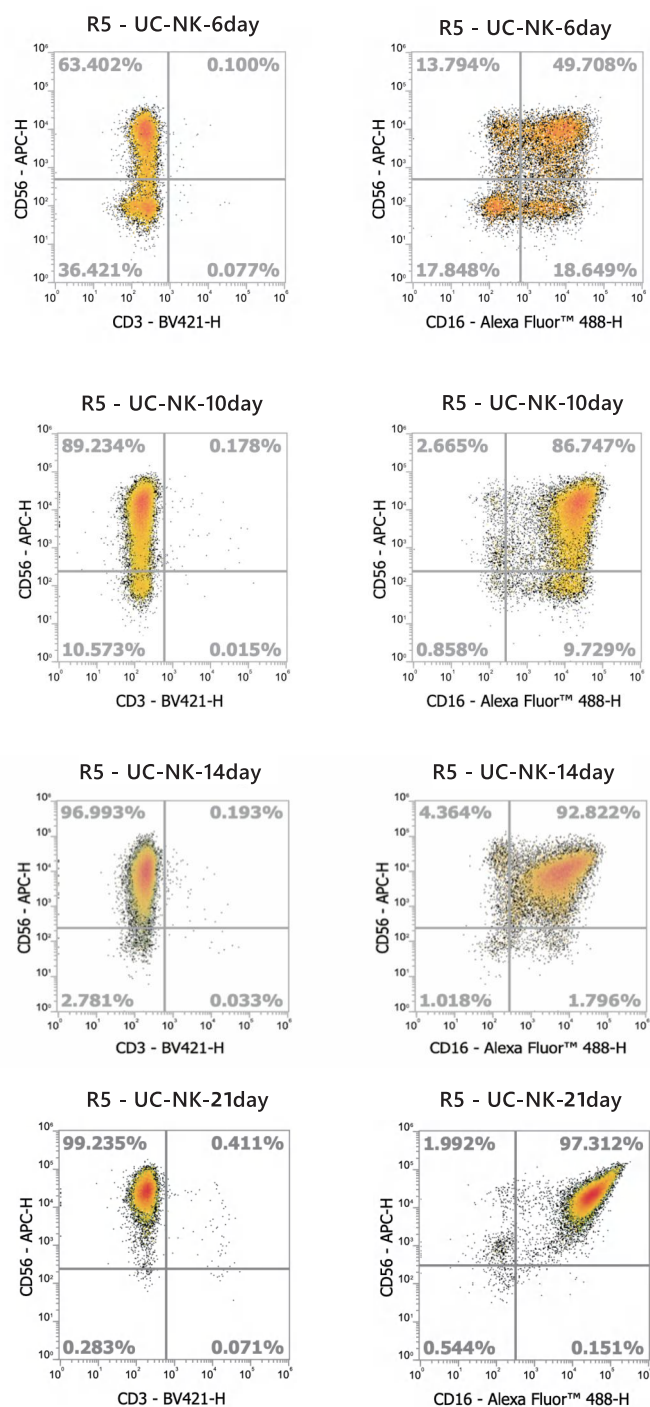
PBNC	DAY0	DAY6	DAY8	DAY9	DAY10	DAY12	DAY14	DAY16	DAY18	DAY20	DAY28
换算细胞总数 (个)	8.98E+06	2.31E+08	6.90E+08	2.60E+09	4.47E+09	8.64E+09	1.84E+10	3.36E+10	6.67E+10	1.52E+11	8.99E+11
扩增倍数		26	77	290	498	962	2049	3742	7428	16927	100111
补液后体积		450ml	900ml	1500ml	3L	6L	12L	24L	48L	96L	300L

PBNC细胞扩增表面marker表达变化



PBNC	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%

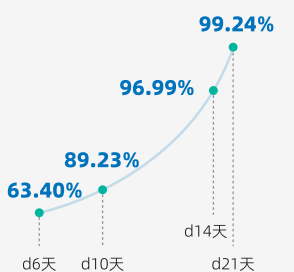
实例二：CB-NK扩增效果



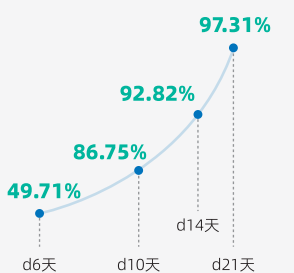
脐带血NK细胞，培养21天，得细胞数量3.2E11，扩增20000倍。

NK细胞纯度

CD3⁺CD56⁺细胞含量



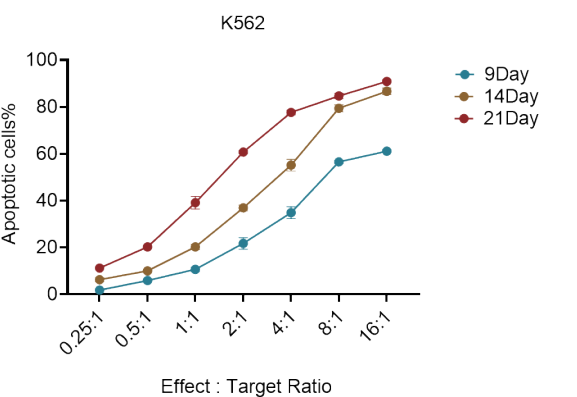
CD16⁺CD56⁺细胞含量



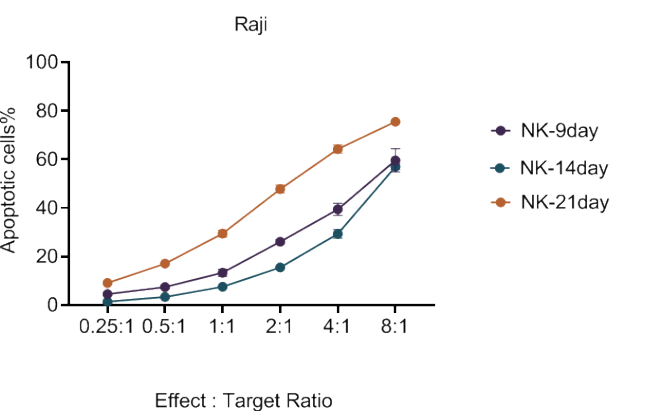
如按照1E9每剂NK细胞量，则可以获得320份可供异体使用的NK细胞。

NK细胞杀伤能力检测

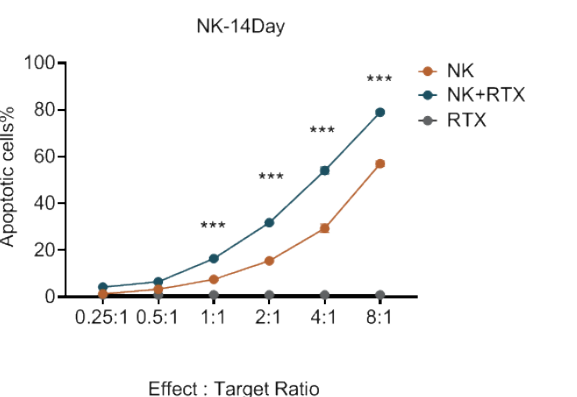
数据展示——K562杀伤能力



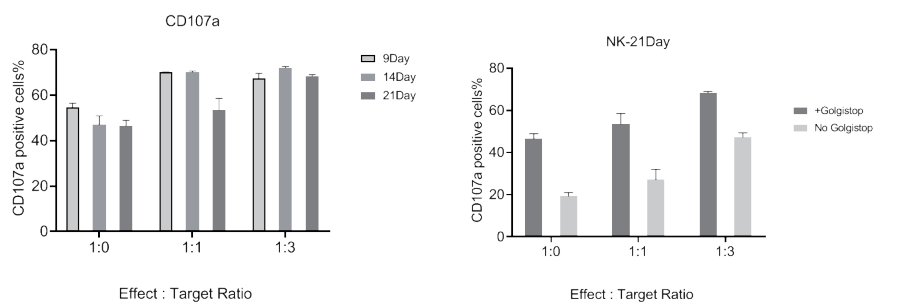
数据展示——Raji杀伤能力



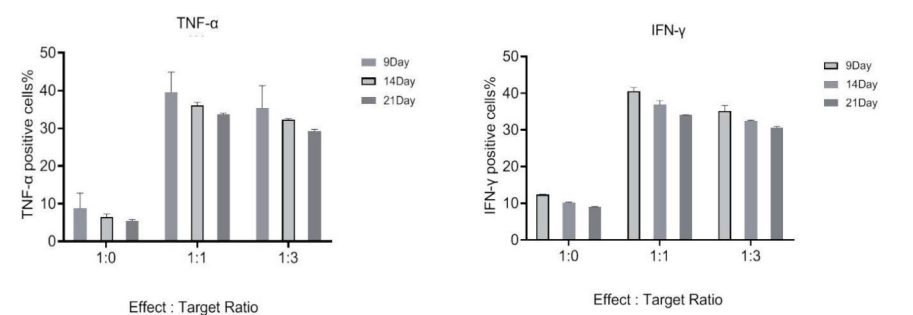
数据展示——ADCC:Raji杀伤能力 Rituximab: 5ug/ml, 共孵育4h



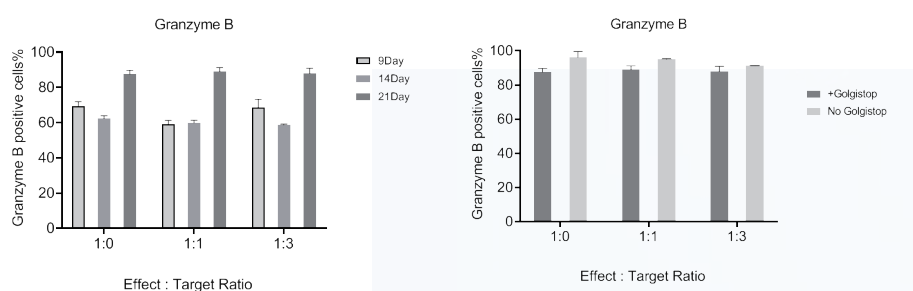
数据展示——因子和杀伤介质分泌：CD107a



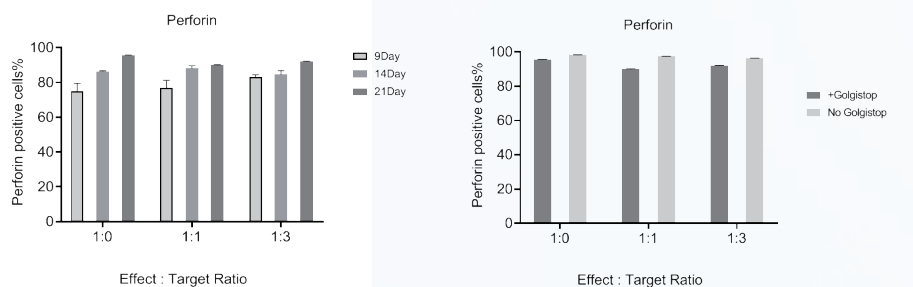
数据展示——因子和杀伤介质分泌：TNF-α、IFN-γ



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

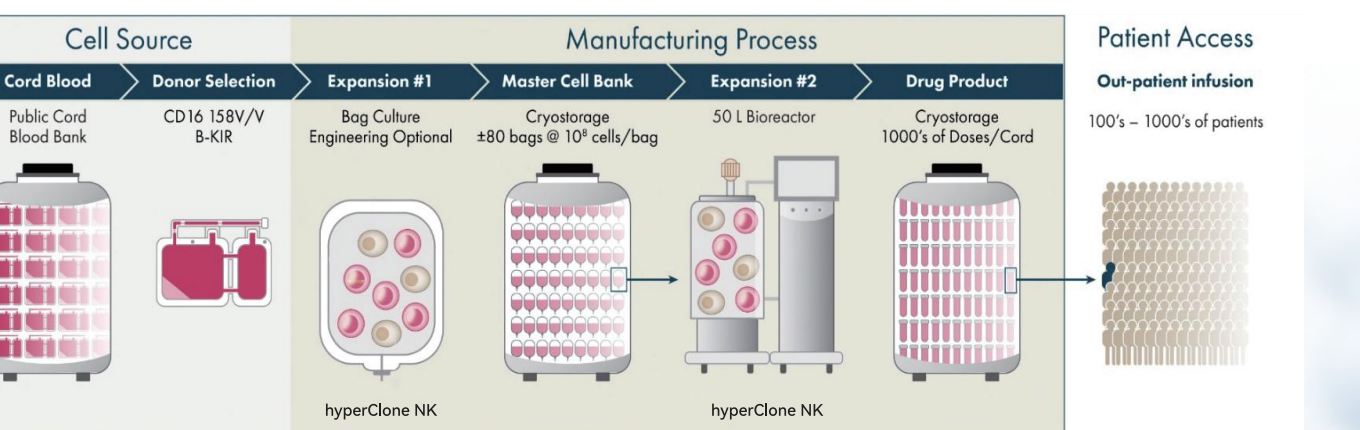
Donor selection



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

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

×10

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

10

十大产品优势

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 Purificaiton Factor Coctail 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	配制扩增完全培养基： 1L novaNK-20培养基+ 20ml Basic Medium Supplyment+ 加1支 Expansion Factor Cocktail 和1支 Stimulation Factor Cocktail 2;
Day4	5%	90mL	T75转T175，补加60ml完全培养基，3mL血浆	用扩增完全培养基
Day5	5%	150mL	补加60ml完全培养基，3mL血浆	用扩增完全培养基
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天之前入袋后，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



订购信息

产品名称	产品货号	产品规格	备注
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	纯度>98%，满足外周血或脐带血异体NK细胞使用，可以千亿级大规模培养NK细胞。 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%左右，自体回输更佳更有性价比；冻存版本纯度达70-90%，满足自体冻存种子多次回输； 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。
NK细胞增强版激活扩增培养试剂盒	hyperCloneNK-HCKit02	1Kit, 2L体系	新鲜外周血，兼容冻存PBMC或冻存CBMC，用于自体NK使用，纯度80-90%左右，2L体系培养60亿-80亿细胞。
扩增试剂组	NKkit-20SE	1L	含有NK细胞无血清培养基（novaNK-20）、BasalMediumSupplement（HC-01-S）、Expansion Factor Cocktail（HC-02-E）

- 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，单个十层细胞工厂收获8-10亿
- 细胞直径14-15um，小于市场同类产品
- GMP level，注射用水配制，内毒素<0.1EU/ml
- 自主研发与生产体系，供货稳定，性价比高

novastem-MSR
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

- 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

人NK细胞高效扩增试剂盒
hyperClone Human NK Activation/Expansion Cocktail

- 明胶成分柔性多孔结构设计
- 粒径大小在150-300um之间
- 优点一：可以进行温和消化，10分钟内消化完成
- 优点二：显微镜可明场观察
- 优点三：支持球转珠，方便扩大培养
- 优点四：更圆润、更均一、更高效
- 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
- 适用于多种贴壁细胞

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