

无血清培养基：当前研究、应用及未来展望

窦年旭^{1,2}, 景晓霞¹, 史嘉琦¹, 乌云¹, 宋璇¹, 张福龙¹, 母智深^{1,2*}

¹ 内蒙古蒙牛乳业（集团）股份有限公司全球研发创新中心 内蒙古呼和浩特

² 内蒙古自治区乳品营养健康与安全重点实验室 内蒙古呼和浩特

【摘要】无血清培养基化学成分明确，可规避血清源性污染，增强实验重复性，有力推动细胞生物学与生物医学研究。在细胞培养肉领域，能维持牛卫星细胞等增殖与肌源性、降低成本；在免疫细胞研究中，保障树突状细胞等高产优质；在肿瘤细胞研究里，助力与肿瘤细胞等相关机制研究与药效评估。未来，无血清培养基将朝着个性化、定制化方向发展，通过挖掘植物源等低成本替代成分，融合生物反应器与自动化技术，并协同 3D 培养与组织工程，拓展在干细胞治疗、再生医学及细胞治疗等领域的应用，为生物医学研究和产业化提供更强大的工具。

【关键词】无血清培养基；细胞培养肉；免疫细胞；肿瘤细胞

【收稿日期】2025 年 10 月 18 日 **【出刊日期】**2025 年 11 月 27 日 **【DOI】**10.12208/j.jafs.20250017

Serum-free culture-medium: current research, applications and future prospects

Nianxu Dou^{1,2}, Xiaoxia Jing¹, Jiaqi Shi¹, Yun Wu¹, Xuan Song¹, Fulong Zhang¹, Zhishen Mu^{1,2*}

¹Global R&D Innovation Center, Inner Mongolia Mengniu Dairy (Group) Co., LTD., Hohhot, Inner Mongolia

²Inner Mongolia Enterprise Key Laboratory of Dairy Nutrition, Health & Safety, Hohhot, Inner Mongolia

【Abstract】Serum-free medium (SFM) features a chemically defined composition, which enables it to avoid serum-derived contamination, enhance experimental reproducibility, and strongly advance research in cell biology and biomedicine. In the field of cultured meat, SFM can maintain the proliferation and myogenicity of cells such as bovine satellite cells while reducing production costs. In immune cell research, it ensures the high yield and high quality of cells including dendritic cells. In tumor cell research, it facilitates studies on mechanisms related to tumor cells and the evaluation of drug efficacy. In the future, SFM will move toward personalization and customization. By exploring low-cost alternative components (e.g., plant-derived substances), integrating bioreactor and automation technologies, and collaborating with 3D culture and tissue engineering, SFM will expand its applications in fields such as stem cell therapy, regenerative medicine, and cell therapy. This will provide a more powerful tool for biomedical research and industrialization.

【Keywords】Serum-free medium; Cell culture meat; Immune cells; Tumor cell

引言

无血清培养基的发展始于 20 世纪 50 年代，研究者发现细胞能在合成培养基中存活，开始尝试去除血清。因细胞生长和分化受限，使得早期无血清培养基未能完全成功，但科学家们通过不断改进配方和条件，试验不同组分和添加物，如细胞外基质蛋白和细胞因子，促进细胞附着和生长。如图 1 所

示，1976 年，Hayashi 等人提出无血清培养基（SFM）概念，早期 SFM 指的是不含有动物血清但是仍含动物源蛋白，化学成分不明确^[1]。80 年代，无动物源培养基（ACFM）作为第二代无血清培养基，以多肽和重组蛋白替代动物源蛋白，旨在降低成本并提高安全性^[2]。90 年代，无蛋白培养基（PFM）作为第三代无血清培养基，完全不含血清和动物源蛋白。

第一作者简介：窦年旭（1998-）男，硕士研究生，工程师，研究方向：食品科学；

*通讯作者：母智深（1968-）男，教授，博士，研究方向：乳与乳制品加工，食品微生物。

它以植物源蛋白水解物或合成多肽来满足细胞生长的需求,因此广泛应用于重组蛋白的生产,显著降低了整体生产成本^[3]。然而,该类培养基通用范围较窄,往往需要对目标细胞株进行特异性优化。21世纪初,化学成分限定培养基(CDM)作为新一代无血清培养基,完全无血清、无蛋白,成分明确,提高批次间一致性,便于细胞代谢检测和产物纯化,但需针对不同细胞株优化以提高表达水平^[4]。2003年4月举行的会议“改进体外培养方法,减少胎牛血清使用”推动了全球范围内对减少血清使用的共识,并促进了无血清培养技术的发展。

无血清培养基对细胞培养肉、免疫和肿瘤细胞研究至关重要。它可模拟体内环境，促进肿瘤细胞

增殖与形态维持,提升科研一致性,助力评估药效和研究机制。在免疫细胞培养中,能够确保效应细胞高产优质,降低风险,提高产品表达水平。在细胞培养肉工业化生产中,有利于降低成本,避免动物屠宰,减少昂贵组分依赖,推动标准化与产业化。本文系统综述了其在上述领域的应用。

1 无血清培养基的组成和特点

无血清培养基与含血清培养基相比化学成分更加明确（如表 1），有效地避免血清批次之间的显著差异，使实验结果具备可重复性。其次，它可减少胎牛血清可能引起的细菌、真菌、内外源性病毒以及支原体等微生物的污染风险，进而减少实验风险。

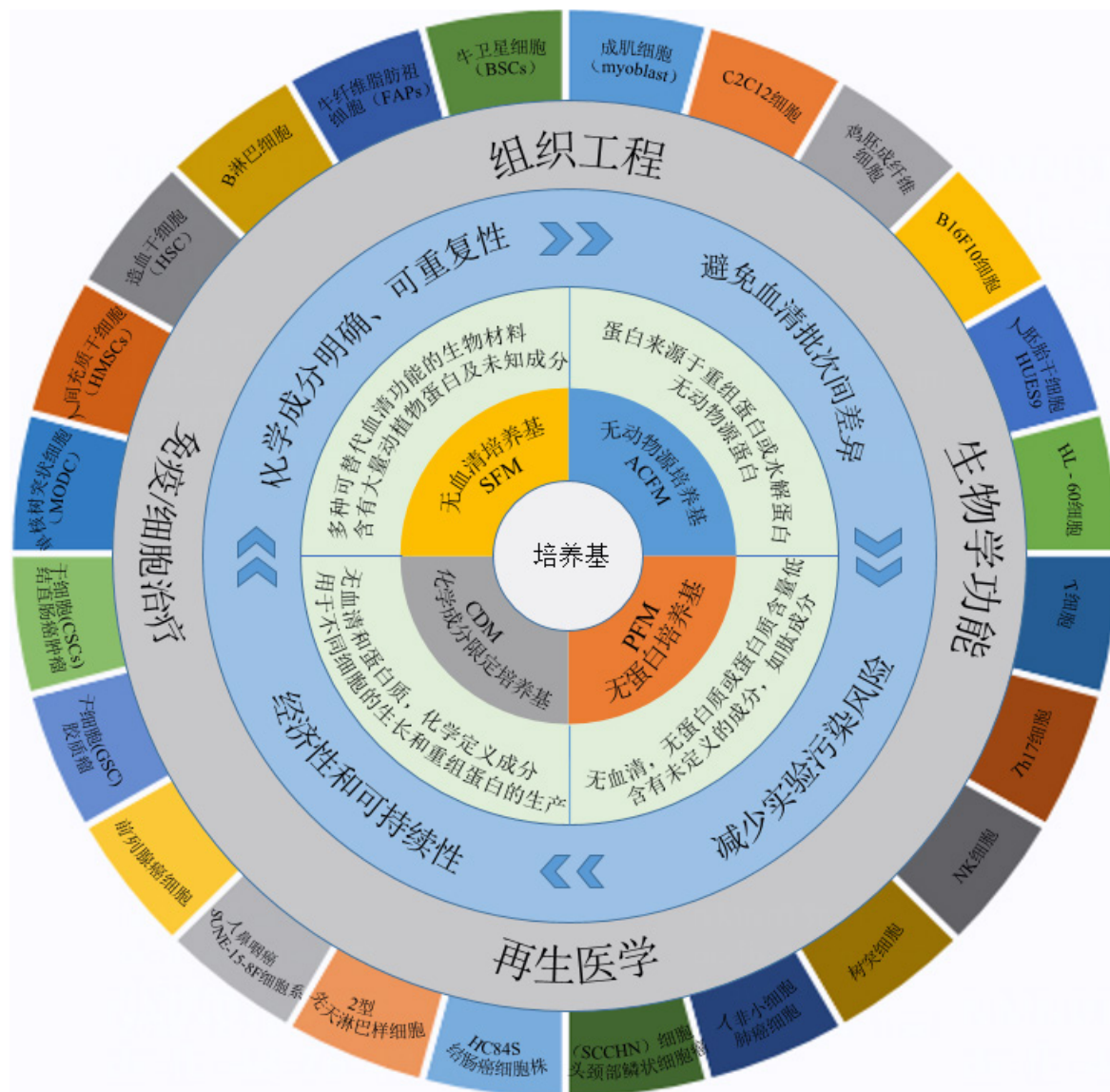


图1 无血清培养基的概况

表 1 无血清培养基的基本成份组成及功能

类别	功能	例子	替代物
能源	碳源	葡萄糖	半乳糖/甘露糖/麦芽糖/糖异生途径等。
氨基酸	氮源	天冬酰胺/谷氨酰胺	合成氨基酸/肽化合物
维生素	维持细胞生长	维生素 C、维生素 E	
脂质	能量储存物质/信号转导	饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸	亚油酸/油酸/乙醇胺/胆碱等
微量元素	细胞代谢酶	铁/硒/铜/锌	
异型保护剂	防止细胞损伤	剪力/P-F68	表面活性剂/减少剪切力
无机盐	稳定渗透压	钠、钾、镁、钙、磷	细胞生理活动/胞间物质/细胞代谢/生理功能
核酸物质	信号通路阻断	次黄嘌呤和胸腺嘧啶核苷	
其他物质	促进细胞生长和蛋白质表达	转铁蛋白/铁/生长因子	NaB/抗氧化剂; 特异性产物/tPA 的表达率

2 无血清培养基在细胞培养肉中的应用

人造肉技术借助细胞培养与组织工程生产肉类, 以降低对环境的影响, 其细胞培养肉的培养过程如图 2 所示。通常, 培养基含动物血清以支持细胞生长, 但这与人造肉理念不符, 且存在动物福利及污染风险。当前, 部分研究聚焦于利用各类蛋白分离物开发无血清培养基(如表 2)。**Stout** 等向低成本无血清培养基 B8 中加入重组白蛋白, 得到新培养基 B9, 其适用于长期卫星细胞扩增且不影响肌原性, 在七次传代的测试期间可保持细胞生长, 平均每 39 小时细胞数量翻倍^[5]。在另一项研究中, 他们提出新型无血清培养基 BR, 以从农业废弃物中碱提取的油菜分离蛋白取代 B9 中的重组白蛋白, BR 不仅维持了牛卫星细胞的增殖与肌原性, 还提高了其生长速度^[6]。**Yamanaka** 等人将含有大鼠肝上皮 RL34 细胞分泌生长因子的上清液作为条件培养基(CM)与小球藻提取物(CVE)的营养培养基组合, 开发条件培养基(CVNM-CM)用于成肌细胞的培养, 结果发现该条件培养基促进成肌细胞的增值和分化, 大幅度降低了生产成本^[7]。**Chu** 等引入乳酸渗透酶基因和 L-乳酸-丙酮酸转化酶基因, 构建重组 L-乳酸同化蓝细菌聚藻球菌, 该菌株与 RL34 细胞共培养可显著降低有害代谢物、乳酸和铵的水平, 促进 C2C12 细胞增殖^[8]。有效优化了大鼠肝上皮 RL34 细胞作为肌肉细胞培养血清替代品的可行性。

3 无血清培养基在免疫细胞中的应用

目前, 无血清培养基培养的免疫细胞主要为细胞毒性 T 淋巴细胞、肿瘤浸润性 T 淋巴细胞、树突状细胞和造血干细胞(如表 3)。**HSU** 等开发的无血清造血干细胞扩增系统, 可从少量造血干细胞诱

导扩增出大量功能性树突状细胞, 且保留造血干细胞向树突状细胞分化的能力^[13]。**Cunha** 等在成年牛循环 CD4+T 细胞分化、扩增实验中发现, 添加 TGF- β 1、IL-6 和 IL-2 的无血清细胞培养基可重新激活并扩增分选后的 Th17 细胞数周, 使 IL-17A+细胞和 IL-17A/IFN- γ 双阳性细胞比例增加^[14]。**Néron** 等发现用低密度脂蛋白和牛血清白蛋白替代牛血清制备的无血清培养基可支持 B 淋巴细胞良好增殖和活力, 并诱导 CD40 活化的 B 淋巴细胞分泌 IgG 和 IgM^[15]。在此基础上, **Néron** 等进一步去除牛血清白蛋白, 用人血浆白蛋白、胰岛素、转铁蛋白和硒替代, 同时添加 IGF、化学定义的脂质、胆固醇、亚油酸、亚麻酸和 α -生育酚制成无牛蛋白培养基, 该培养基在支持 CD40 激活的 B 淋巴细胞扩增、活力和分泌能力方面与含血清培养基相当, 有效减少了 B 淋巴细胞在体外抗原刺激下的偏倚^[15]。

4 无血清培养基在肿瘤细胞中的应用

在无血清培养基中添加表皮生长因子(EGF)和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF), 能够诱导多能干细胞及具有自我更新能力的干细胞增殖(如表 4 所示)。**Su** 等在人鼻咽癌 SUNE-15-8F 细胞系中发现 CD44+细胞在无血清培养基中具有更强的增殖能力, 且 Bmi-1 和 Oct-4 mRNA 表达水平更高^[25]。**Okamoto** 等人发现在无血清培养基培养条件下, 永久性癌细胞系中 CD44+细胞的一小部分(小于 3%)急剧增加, 达到 40%左右。此外, CD44+细胞在体外具有显著的肿瘤球形成、增殖、迁移和侵袭能力^[26]。**MURAKAMI** 等人从裸鼠移植的结肠癌细胞系 T84 培养出 HC84S 细胞, 发现胰岛素、胰高血糖素、转铁蛋白、EGF、氢化可的松、T3、

亚硒酸盐、抗坏血酸和胃泌素在无血清培养基中可促进细胞生长, 除胃泌素外, 由这些补充物形成的培养基使 HC84S 细胞生长速度达到含血清培养基

的 3 倍, 并呈现类似小鼠 T84 肿瘤的腺体样外观^[27]。此发现对肿瘤的发生、发展及治疗抗性具有重要意义。

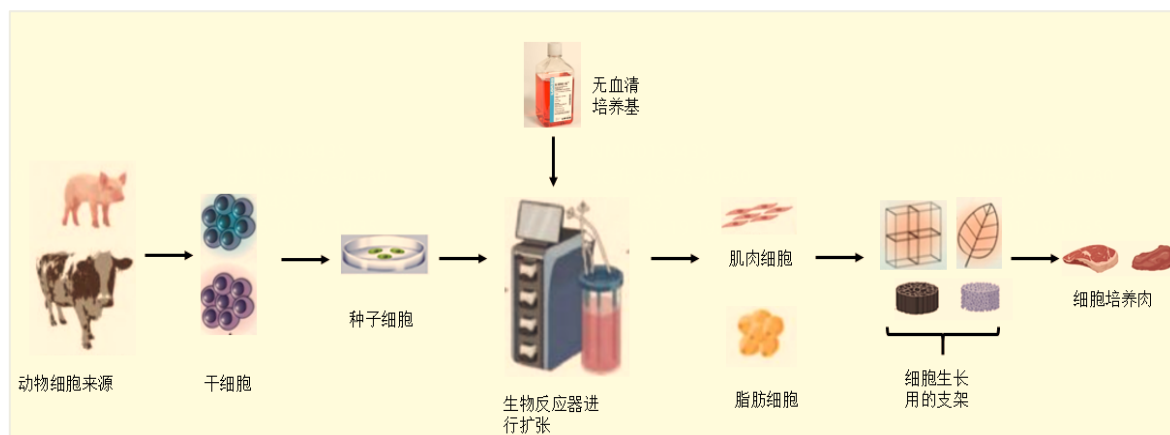


图 2 细胞培养肉的流程

表 2 无血清培养基在细胞培养肉中的应用

细胞	血清培养基	无血清培养基	结果	参考文献
牛卫星细胞 (BSCs)	Beefy-8	Beefy-8+人重组白蛋白 (Beefy-9)	细胞扩增而不牺牲肌源性	[5]
牛卫星细胞 (BSCs)	Beefy-9	RPI 取代重组白蛋白 (Beefy-R)	BSCs 维持了细胞表型和肌源性	[6]
成肌细胞 (myoblast)	小球藻衍生营养培养基 (CVNM) +10%FBS	大鼠肝上皮细胞 RL34 的小球藻衍生营养培养基的上清液 (CVNM-CM) +10%小球藻提取物 (CVE)	代谢活性相当, 促进牛成肌细胞的增殖	[7]
C2C12 成肌细胞	DMEM+10%FBS+1%青霉素-链霉素	大鼠上皮肝细胞 RL34 的 DMEM 培养基+L-乳酸同化蓝细菌聚藻球菌 (KC0110) (乳酸渗透酶基因和 L-乳酸-丙酮酸转化酶基因)	有害代谢物、乳酸和铵的水平降低, 支持成肌细胞增殖	[8]
牛卫星细胞 (BSCs)	DMEM/F-12+20%FBS+0.005 $\mu\text{g/mL}$ FGF-2	DMEM/F12+ L-抗坏血酸 2-磷酸+纤维连接蛋白+氢化可的松+谷氨酰胺 TM +白蛋白+ITSX+HIL-6+ α -亚麻酸+生长因子 (FGF-2、VEGF、IGF-1、HGF 和 PDGF-BB)	支持高达 97%细胞生长	[9]
牛纤维脂肪祖细胞 (FAPs)	PM+17mM 葡萄糖+2 mM 丙谷二肽	PM+17mM 葡萄糖+10mM α -酮戊二酸或 10 mM 丙酮酸或者 10 mM 谷氨酸	以 α -酮戊二酸为基础的增殖培养基 (PM) 在促进和维持 FAPs 生长的几代传代中最有效。半乳糖和丙酮酸取代葡萄糖和谷氨酰胺对促进 FAPs 分化为成熟脂肪细胞最有效	[10]
	不含 Gluc 和 Gln 的 DMEM 或 DMEM/F12+17 mM Gluc 和 4 mM Gln (或 GlnX)	不含 Gluc 和 Gln 的 DMEM 或 DMEM/F12+17 mM 半乳糖和 10 mM 丙酮酸		
原代鸡胚成纤维细胞	DMEM+10%FBS+200unit/mL 青霉素-链霉素+2 mM L-丙氨酸-L-谷氨酰胺	DMEM/F12+3 $\mu\text{g/mL}$ 胰岛素+10 ng/mL 成纤维细胞生长因子+2 $\mu\text{g/mL}$ 氢化可的松+7 ng/mL 亚硒酸钠+2 mM L-丙氨酸-L-谷氨酰胺+10 $\mu\text{g/mL}$ 大豆卵磷脂	诱导永生化成纤维细胞中的脂肪生成	[11]
牛卫星细胞 (BSCs)	DMEM+10%胎牛血清+0.001 $\mu\text{g/mL}$ FGF-2+1% 抗生素-抗真菌溶液	HiDef-B8 培养基 (胰岛素、抗坏血酸-2-磷酸、转铁蛋白、亚硒酸钠、TGFB3、NRG1、FGF2/bFGF) +苜蓿分离蛋白+L-谷氨酰胺	低浓度的苜蓿分离蛋白显著提高了细胞的增殖能力	[12]

表 3 无血清培养基在免疫细胞中的应用

细胞	含血清培养基	无血清培养基	结果	参考文献
B 淋巴细胞	IMDM+10% FBS+10 $\mu\text{g/mL}$ 胰岛素+5.5 $\mu\text{g/mL}$ 转铁蛋白+0.0067 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠+100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素+100 U/mL 青霉素	IMDM+10000 $\mu\text{g/mL}$ 牛血清白蛋白+10 $\mu\text{g/mL}$ 重组人胰岛素+200 $\mu\text{g/mL}$ 转铁蛋白+低密度脂蛋白 20 $\mu\text{g/mL}$ +50 μM 的 2-巯基乙醇	B 淋巴细胞的增殖和活力与在含有 10%胎牛血清的培养基中一样	[15]
		IMDM+10 $\mu\text{g/mL}$ 胰岛素+5.5 $\mu\text{g/mL}$ 转铁蛋白+0.0067 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠+2 $\mu\text{g/mL}$ 花生四烯酸+亚油酸、亚麻酸、肉豆蔻酸、油酸、棕榈酸和硬脂酸 (各 10 $\mu\text{g/mL}$) +220 $\mu\text{g/mL}$ 胆固醇+2.2 mg/mL 吐温-80+70 $\mu\text{g/mL}$ 生育酚醋酸酯+100mg/mL Pluronic acid F-68+0.015 $\mu\text{g/mL}$ 胰岛素样生长因子 (IGF) +2.5 mg/mL 人血浆白蛋白	细胞活力、IgG 和 IgM 分泌方面均无显著差异, 但 B 淋巴细胞有更好的扩增	
造血干细胞 (hsc)	IMDM+0.0085 $\mu\text{g/mL}$ 促血小板生成素+0.0041 $\mu\text{g/mL}$ IL-3+0.015 $\mu\text{g/mL}$ 干细胞因子+0.0067 $\mu\text{g/mL}$ FIT-3 配体+0.0008 $\mu\text{g/mL}$ IL-6+0.0032 $\mu\text{g/mL}$ 粒细胞集落刺激因子+0.0013 $\mu\text{g/mL}$ 粒细胞巨噬细胞刺激因子+10% FBS	IMDM+0.0085 $\mu\text{g/mL}$ 促血小板生成素+0.0041 $\mu\text{g/mL}$ IL-3+0.015 $\mu\text{g/mL}$ 干细胞因子+0.0067 $\mu\text{g/mL}$ FIT-3 配体+0.0008 $\mu\text{g/mL}$ IL-6+0.0032 $\mu\text{g/mL}$ 粒细胞集落刺激因子+0.00013 $\mu\text{g/mL}$ 粒细胞巨噬细胞刺激因子+血清替代品 (1.5 g/L 人血清白蛋白+4.4 mg/mL 人胰岛素+60 mg/mL 转铁蛋白+25.9mmol/L 2-巯基乙醇)	保持了造血干细胞向树突状细胞分化的能力	[16]
B16F10 细胞系	RPMI-1640+10% FCS+100 $\mu\text{g/mL}$ 青霉素+50 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素+55 μM β -巯基乙醇	DMEM/F12: RPMI-1640 (按 1: 1 的比例配制) +1 mg/mL 牛血清白蛋白+5 $\mu\text{g/mL}$ 胰岛素+5 $\mu\text{g/mL}$ 转铁蛋白+10 nM 亚硒酸钠+5 nM 三碘甲状腺氨酸+50 nM 氢化可的松+100 $\mu\text{g/mL}$ 青霉素+50 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素	在肿瘤植入实验中, 不需要肿瘤在体内繁殖以避免 FCS 效应	[17]
人胚胎干细胞系 HUES9	80%Knockout DMEM+20%FBS+50 μmL 青霉素-链霉素	80%Knockout DMEM+20%KSR (2mM L-谷氨酰胺+ 1%非必需氨基酸溶液+ 0.1 mM 巯基乙醇+ 4 ng/mL 人碱性成纤维细胞生长因子)+50u /mL 青霉素-链霉素	获得高产量的多巴胺能细胞类型	[18]
人间充质干细胞 (hMSCs)	L-DMEM+15%FBS+青霉素-链霉素	DMEM/F12+20%KSR (2 μM L-谷氨酰胺+0.1 μM NEAA+0.1 μM 2-巯基乙醇+ 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 人 bFGF) +青霉素-链霉素	阻止细胞粘附并促进细胞迁移和聚集成球体	[19]
人早幼粒细胞白血病 HL - 60 细胞 (dHL - 60)	RPMI-1640+10% FBS+全反式维甲酸 (ATRA) /二甲亚砜 (DMSO)	X-VIVO™15 培养基 (L-谷氨酰胺+庆大霉素+重组人胰岛素+重组人转铁蛋白+白蛋白) +全反式维甲酸 (ATRA) /二甲亚砜 (DMSO)	无血清培养基中培养的 dHL - 60 细胞在 PMA 或 CL 刺激下释放 NETs 的能力高于在含血清培养基中培养的细胞	[20]
单核细胞衍生的树突状细胞 (MoDC)	RPMI-1640+10%FBS+100 μmL 青霉素+100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素+2mM 谷氨酰胺+ 1mM 丙酮酸钠+ 1 \times MEM 非必需氨基酸	AIM-V 无血清培养基、X-VIVO 15 无血清培养基、DendriMACS 无血清培养基	只有 AIM-V 或 X-VIVO 15 增强了 MoDC 的能力, 将 T 辅助细胞 1 型亚群极化为主要抗原特异性 CD8+T 细胞, 并激活 NK 细胞	[21]
单核细胞来源的树突状细胞 (MoDC)	RPMI-1640+10%FBS+4.3 mM L-谷氨酰胺+2.5 mg/mL 两性霉素 B+10 mg/mL 庆大霉素+50 mg/mL 链霉素	AIM-V 无血清培养基 (4.3 mM L-谷氨酰胺、2.5 mg/mL 两性霉素 B、10 mg/mL 庆大霉素、50 mg/mL 链霉素)	MHCii类表达密度 (MdFI)、IFN-g 和表达 CD205 的比例增加	[22]
单核细胞源性树突状细胞 (MoDC)	RPMI-1640+10%FBS+2 mM L-谷氨酰胺+50 $\mu\text{g/mL}$ 庆大霉素	AIM-V 培养基+2.5 $\mu\text{g/mL}$ 两性霉素 B+2 mM L-谷氨酰胺	两种培养基培养的 MoDC 细胞活力相当, AIM-V 无血清培养基可以稳定可靠地生成 MoDC	[23]
T 细胞	X-VIVO15+FBS、1B2H+FBS	X-VIVO 15、1B2H	1B2H 可以在无血清的情况下扩增初始 T 细胞和 TEM T 细胞	[24]
Th17 细胞	RPMI-1640+10% FCS+TGF- β +IL-6	X-VIVO™15 培养基+0.01 $\mu\text{g/mL}$ IL-2+0.04 $\mu\text{g/mL}$ IL-6+0.002 $\mu\text{g/mL}$ TGF- β 1	可将 Th17 细胞重新激活, 导致 IL-17A+细胞和 IL-17A-IFN- γ 双阳性细胞的比例增加	[14]

表 4 无血清培养基在肿瘤细胞中的应用

细胞	含血清培养基	无血清培养基	结果	参考文献
结直肠癌肿瘤干细胞 (CSCs)	DMEM/F12+10%FBS+1%青霉素-链霉素	0.02 μg/mL EGF + 5 μg/mL 胰岛素 + 0.01 μg/mL bFGF + 2% 人类白蛋白抗 原 B27	结直肠癌 CSCs 标志物 mRNA 和 蛋白水平更高	[28]
胶质瘤干细胞 (GSCs)	DMEM/F12+10%FBS+1%青霉素-链霉素	DMEM/F12 + 0.02 μg/mL EGF + 0.02 μg/mL bFGF + B27 (1: 50)	大多数原代培养的单层胶质瘤细胞 (PCGCs) 在 7 天内形成漂浮 的神经球样多细胞聚集体	[29]
前列腺癌 (PCa) 细胞系	DMEM/F12 (1: 1) + 10%FBS+1%青霉素/链霉 素	DMEM/F12 (1: 1) + 0.02 μg/mL EGF + 0.02 μg/mL bFGF + 0.002 μg/mL 重组人 白血病抑制因子	CD133+/CD44+细胞在体外具有增 强的集落形成能力和侵袭能力, 在体内表现出更强的致瘤性	[30]
人鼻咽癌 SUNE-1 5-8F 细 胞系	RPMI-1640+10%FBS+100 U/mL 青霉素+100 mg/mL 链霉素	RPMI-1640+0.01 μg/mL bFGF+0.02 μg/mL EGF+200 U/mL 青霉素+200 mg/mL 链霉素	新分选的 CD44+细胞比 CD44-和 未分选的细胞表现出更强的增殖 能力	[25]
2 型先天淋巴样细胞 (ILC2s)	RPMI-1640+100 U 青霉素- 链霉素 (P/S) +10% FBS	StemSpan SFEM II + 0.1 μg/mL IL- 33+TSLP+0.025 μg/mL 的 RM IL- 7+1000 Units/mL IL-2+100 U 青霉素- 链霉素	无血清培养基中的细胞在 8 天内 保持一致的活力 (>90%)	[31]
人结肠癌细胞株 HC84S	DMEM/F12+15 mM Hepes 缓冲液+1.2g NaHCO ₃ +40mg 青霉素+8 mg 氨苄西林+90 mg 链霉素/升 +2.5%FBS+5%马血清	DMEM/F12+15 mM Hepes 缓冲液 +1.2gNaHCO ₃ +40mg 青霉素+8 mg 氨苄西林+90 mg 链霉素/升+2μg/mL 胰 岛素+0.2μg/mL 胰高血糖素+2g/mL 转 铁蛋白+0.001 μg/mL EGF+50 nM 氢化 可的松+0.5 nM 三碘甲状腺氨酸+25 nM 亚硒酸盐+57μM 抗坏血酸+胃泌素	细胞生长速度更快并表现出与小 鼠 T84 肿瘤相似的腺体样外观	[32]
永久性头颈部鳞状细胞癌 (SCCHN) 细胞系	RPMI-1640+10%FBS+2 mM L-谷氨酰胺+100 units/mL 青霉素+100μg/mL 链霉素	RPMI-1640+2 mM L-谷氨酰胺+100 units/mL 青霉素+100μg/mL 链霉素 +EGF +bFGF	CD44+细胞在体外具有显著的肿 瘤球形成、增殖、迁移和侵袭能 力	[26]
人非小细胞肺癌细胞系	RPMI-1640+10μg/mL 胰岛 素+10μg/mL 转铁蛋白 +50nM 氢化可的松+25nM 亚硒酸钠+1μg/mL EGF+1mg/mLBSA	RPMI+纤维连接蛋白+胶原蛋白 +20μg/mL 胰岛素+10μg/mL 转铁蛋白 +50nM 氢化可的松+25nM 亚硒酸钠 +10μg/mL EGF+0.5mM 丙酮酸+2mM 谷氨酰胺+100pm 三碘甲状腺原氨酸	添加最佳浓度的 BSA 的培养基支 持 12 个细胞系中 10 个细胞系的 长期生长	[33]

5 未来展望

随着细胞生物学与分子生物学的持续推进, 无血清培养基的发展聚焦于以下要点: 其一, 着重个性化与定制化研发。深入探究特定细胞类型及组织的营养需求, 精准开发适配的培养基配方, 保障细胞生长、分化及功能稳定。其二, 聚焦经济型替代成分探索。借助植物源生长因子或合成生物学手段合成必需细胞生长因子, 削减成本。其三, 融合先进生物反应器技术与自动化体系, 达成高效细胞培养。自动化精准把控培养条件, 涵盖 pH、氧/二氧化碳浓度、温度等, 增强稳定性与重复性。其四, 紧密联合 3D 细胞培养与组织工程技术, 模拟体内微环境, 助力解析细胞间、细胞与基质交互及组织构建与功能发挥。

6 结论

无血清培养基可精准模拟体内微环境, 在肿瘤细胞研究中, 能维持 CD44 + 等肿瘤细胞及肿瘤干

细胞特性, 助力解析肿瘤发生发展机制, 提升药效评估与信号通路研究的精准度; 在免疫细胞培养中, 可支持树突状细胞、Th17 细胞等高效扩增, 维持细胞功能状态 (如树突状细胞抗原提呈能力、T 细胞杀伤活性), 保障效应细胞高产且优质, 为细胞治疗产品标准化提供支撑; 在细胞培养肉工业化生产中, 能降低病毒污染风险, 减少对重组白蛋白等贵重成分的依赖, 增强牛卫星细胞等肌肉相关细胞的增殖与分化潜能, 提升产物表达纯化效率, 为细胞生物学研究、生物医学转化及细胞培养肉产业化发展注入关键动力。

参考文献

- [1] Keen M J, and Rapson N T Development of a serum-free culture medium for the large scale production of recombinant protein from a Chinese hamster ovary cell line[J]. Cytotechnology, 1995, 17: 153-163.

- [2] Li Y, Powell S, Brunette E, et al. Expansion of human embryonic stem cells in defined serum - free medium devoid of animal - derived products[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2005, 91(6): 688-698.
- [3] Spens E, and Häggström L Defined protein - free NS0 myeloma cell cultures: Stimulation of proliferation by conditioned medium factors[J]. *Biotechnology Progress*, 2005, 21(1): 87-95.
- [4] Huang Y M, Hu W, Rustandi E, et al. Maximizing productivity of CHO cell - based fed - batch culture using chemically defined media conditions and typical manufacturing equipment[J]. *Biotechnology Progress*, 2010, 26(5): 1400-1410.
- [5] Stout A J, Mirliani A B, Rittenberg M L, et al. Simple and effective serum-free medium for sustained expansion of bovine satellite cells for cell cultured meat[J]. *Communications Biology*, 2022, 5(1): 466.
- [6] Stout A J, Rittenberg M L, Shub M, et al. A Beefy-R culture medium: replacing albumin with rapeseed protein isolates[J]. *Biomaterials*, 2023, 296: 122092.
- [7] Yamanaka K, Haraguchi Y, Takahashi H, et al. Development of serum-free and grain-derived-nutrient-free medium using microalga-derived nutrients and mammalian cell-secreted growth factors for sustainable cultured meat production[J]. *Scientific Reports*, 2023, 13(1): 498.
- [8] Chu S, Haraguchi Y, Asahi T, et al. A serum-free culture medium production system by co-culture combining growth factor-secreting cells and L-lactate-assimilating cyanobacteria for sustainable cultured meat production[J]. *Scientific Reports*, 2024, 14(1): 19578.
- [9] Kolkman A M, Van Essen A, Post M J, et al. Development of a chemically defined medium for in vitro expansion of primary bovine satellite cells[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10: 895289.
- [10] Hubalek S, Melke J, Pawlica P, et al. Non-ammonogenic proliferation and differentiation media for cultivated adipose tissue[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2023, 11: 1202165.
- [11] Pasitka L, Cohen M, Ehrlich A, et al. Spontaneous immortalization of chicken fibroblasts generates stable, high-yield cell lines for serum-free production of cultured meat[J]. *Nature Food*, 2023, 4(1): 35-50.
- [12] Amirvaresi A, and Ovissipour R Evaluating the Efficacy of Serum-Free Media Supplemented with Protein Isolates for Bovine Satellite Cell Proliferation: A Sustainable Approach for Cultivated Meat Production[J]. *BioRxiv*, 2024, 23: 609451.
- [13] Hsu S-C, Lu L-C, Chan K-Y, et al. Large-scale production and directed induction of functional dendritic cells vivo from serum-free expanded human hematopoietic stem cells[J]. *Cytotherapy*, 2019, 21(7): 755-768.
- [14] Cunha P, Vern Y L, Gitton C, et al. Expansion, isolation and first characterization of bovine Th17 lymphocytes[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 16115.
- [15] Néron S, Roy A, Dumont N, et al. Effective in vitro expansion of CD40-activated human B lymphocytes in a defined bovine protein-free medium[J]. *Journal of Immunological Methods*, 2011, 371(1-2): 61-69.
- [16] Hsu S-C, Lu L-C, Chan K-Y, et al. Large-scale production and directed induction of functional dendritic cells ex vivo from serum-free expanded human hematopoietic stem cells[J]. *Cytotherapy*, 2019, 21(7): 755-768.
- [17] Bouwer A L, Netter P, Kemp R A, et al. A defined serum-free medium useful for monitoring anti-melanoma responses induced by dendritic cell immunotherapy[J]. *Journal of Immunological Methods*, 2010, 352(1-2): 178-181.
- [18] Datta I, Ganapathy K, Tattikota S M, et al. Directed differentiation of human embryonic stem cell - line HUES9 to dopaminergic neurons in a serum - free defined culture niche[J]. *Cell Biology International*, 2013, 37(1): 54-64.
- [19] Dong G, Wang S, Ge Y, et al. Serum - free culture system for spontaneous human mesenchymal stem cell spheroid formation[J]. *Stem Cells International*, 2019, 2019(1): 6041816.
- [20] Guo Y, Gao F, Wang Q, et al. Differentiation of HL-60 cells in serum-free hematopoietic cell media enhances the

- production of neutrophil extracellular traps[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2021, 21(4): 1792-1015.
- [21] Calmeiro J, Mendes L, Duarte I, et al. In-Depth Analysis of the Impact of Different Serum-Free Media on the Production of Clinical Grade Dendritic Cells for Cancer Immunotherapy. *Front. Immunol.* 11 593363 (2021).
- [22] Guinan J, and Lopez B S Generating bovine monocyte-derived dendritic cells for experimental and clinical applications using commercially available serum-free medium[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 591185.
- [23] Lopez B S, Hurley D J, Giancola S, et al. Phenotypic characterization of equine monocyte-derived dendritic cells generated ex vivo utilizing commercially available serum-free medium[J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2020, 222: 110036.
- [24] Medvec A R, Ecker C, Winters E A, et al. Improved expansion and in vivo function of patient T cells by a serum-free medium[J]. *Molecular Therapy Methods & Clinical Development*, 2018, 8: 65-74.
- [25] Su J, Xu X-H, Huang Q, et al. Identification of cancer stem-like CD44+ cells in human nasopharyngeal carcinoma cell line[J]. *Archives of Medical Research*, 2011, 42(1): 15-21.
- [26] Okamoto A, Chikamatsu K, Sakakura K, et al. Expansion and characterization of cancer stem-like cells in squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Oral Oncology*, 2009, 45(7): 633-639.
- [27] Murakami H, and Masui H Hormonal control of human colon carcinoma cell growth in serum-free medium[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1980, 77(6): 3464-3468.
- [28] Zhang Q, Li X-T, Chen Y, et al. Wnt/ β -catenin signaling mediates the suppressive effects of diallyl trisulfide on colorectal cancer stem cells[J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2018, 81: 969-977.
- [29] Zhang D, Qiu B, Wang Y, et al. Temozolomide increases MHC - I expression via NF - κ B signaling in glioma stem cells[J]. *Cell Biology International*, 2017, 41(6): 680-690.
- [30] Wang L, Huang X, Zheng X, et al. Enrichment of prostate cancer stem-like cells from human prostate cancer cell lines by culture in serum-free medium and chemoradiotherapy[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2013, 9(5): 472-479.
- [31] de Lucia Finkel P, Sherwood C, Saranchova I, et al. Serum free culture for the expansion and study of type 2 innate lymphoid cells[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 12233.
- [32] Murakami H, and Masui H Hormonal control of human colon carcinoma cell growth in serum-free medium[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1980, 77(6): 3464-3468.
- [33] Brower M, Carney D N, Oie H K, et al. Growth of cell lines and clinical specimens of human non-small cell lung cancer in a serum-free defined medium[J]. *Cancer Research*, 1986, 46(2): 798-806.

版权声明: ©2025 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS