

DB32

江苏省地方标准

DB32/T 5148—2025

## 铁皮石斛干细胞生产技术规范

Code of practice for stem cells from dendrobium officinale

2025-07-01发布

2025-08-01实施

江苏省市场监督管理局 发布  
中国标准出版社 出版

目 次

前言 .....Ⅲ

1 范围 .....1

2 规范性引用文件 .....1

3 术语和定义 .....1

4 生产条件 .....1

5 种源干细胞获取、筛选与增殖.....1

6 培育生产 .....2

7 扩大生产 .....3

8 采收 .....3

9 生产记录 .....3

参考文献.....4

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由江苏省农业农村厅提出并组织实施。

本文件由江苏省园艺标准化委员会归口。

本文件起草单位：江苏省农业科学院、苏州普朗特皮肤细胞科技有限公司、西交利物浦大学、苏州珀立科技服务有限公司、思格(苏州)生物科技有限公司、苏州工业园区服务外包职业学院。

本文件主要起草人：陈小龙、张杰、吴红升、余向阳、宋立晓、周燕群、王牧、任宝永、李毅、覃鸿妮。

# 铁皮石斛干细胞生产操作规程

## 1 范围

本文件规定了铁皮石斛干细胞室内培育的生产条件,种源干细胞获取、筛选与增殖,培育生产,扩大生产,采收和生产记录。

本文件适用于铁皮石斛干细胞室内培育生产。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 5749 生活饮用水卫生标准

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**铁皮石斛干细胞 stem cells from dendrobium officinale**

从铁皮石斛茎尖离体培养愈伤组织,经培育,获得的迅速稳定增殖的植物干细胞。

## 4 生产条件

室内环境洁净度应达到十万级以上,温度为 25℃~28℃,光照强度 1 800 lx~2 000 lx(增殖阶段为完全黑暗),相对湿度为 40%~70%。生产用水应符合 GB 5749,过滤水应符合 GB/T 6682。

## 5 种源干细胞获取、筛选与增殖

### 5.1 培养基配制

#### 5.1.1 诱导固体培养基

采用 1/2 MS+2 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA+20 g/L 蔗糖+7.5 g/L 琼脂进行种源干细胞的固体培养。

#### 5.1.2 种源干细胞增殖培养基

采用 1/2 MS+1 mg/L 6-BA+20 g/L 蔗糖+7.5 g/L 琼脂进行固体培养增殖。

## 5.2 种源干细胞获取

### 5.2.1 材料选取

应选取良种铁皮石斛植物体茎尖端 5 mm 的组织。

### 5.2.2 消毒

用质量分数为 0.1% 的升汞溶液消毒。

### 5.2.3 组织切碎

将尖端组织切成 0.1 mm 的碎块,使植物静止中心组织暴露。

### 5.2.4 愈伤组织培养

将上述组织碎块置于愈伤组织诱导固体培养基(MS 基础培养基+1.0 mg/L NAA+0.8 mg/L 6-BA+25 g/L 蔗糖+7.0 g/L 琼脂, pH 值 5.8)中, 25℃~26℃黑暗条件下培养 21 d~28 d, 获得愈伤组织。

### 5.2.5 愈伤组织细胞增殖

在相同固体培养基和培养条件下增殖愈伤组织细胞。

## 5.3 筛选与纯化

### 5.3.1 清理

愈伤组织细胞增殖后,每 10 d 将死亡的、褐化的以及玻璃化的愈伤组织清理出培养体系。

### 5.3.2 筛选

筛选留存淡黄色或淡绿色、生长茁壮、均一的种源干细胞,用于进一步培养。经过 20 代培养后,逐渐筛选到干细胞。

## 5.4 种源干细胞增殖

按照鲜重 0.2 g/cm<sup>2</sup>~0.3 g/cm<sup>2</sup>接种量,将种源干细胞转接至 500 mL 玻璃瓶中进行固体培养。在温度 26℃~28℃环境下,光照强度为 800 lx~1 000 lx,每天光照 8 h,黑暗培养 16 h。培养过程中,每 21 d~28 d 更换新培养基,培养周期为 50 d~55 d。

## 6 培育生产

### 6.1 增殖培养基配制

采用 1/2 MS 培养基+1 mg/L 6-BA+20 g/L 蔗糖+7.5 g/L 琼脂固体培养基+10 g/L 马铃薯提取物进行种源干细胞继代培养。

### 6.2 培育操作

操作条件与 5.4 相同,按 0.4 g/L~0.5 g/L 接种量,将种源干细胞转接至 1 L 玻璃瓶中。在培养过程中,每 20 d~25 d 更换新培养基,培养周期为 50 d~55 d,持续继代应达到 100 代以上。

7 扩大生产

7.1 接种

按 0.4 g/L~0.5 g/L 接种量,将采收的种源干细胞转接至 2 L~3 L 的固体培养瓶中,其他按第 6 章的规定执行。

7.2 日常管理

每天观察培养瓶,如发现褐化、玻璃化组织,及时清除出培养体系。如发现细菌或真菌的污染,立即将污染品移出培育生产间并销毁。

8 采收

8.1 采收标准

选取形态规则,干细胞成团性好,干细胞颗粒均匀,淡黄色或淡绿色的干细胞。

8.2 采收方法

采收时剔除褐化的干细胞团,选取颜色,生长状态和生长速率稳定的干细胞组织,无菌包装,用于后续的诱导和育苗。

8.3 质量等级划分

8.3.1 特级

形态规则,干细胞成团性好,直径大于 8 mm,干细胞颗粒均匀,淡黄色或淡绿色。

8.3.2 一级

形态基本规则,干细胞成团性较好,直径 3 mm~6 mm,干细胞偶见黄褐色斑点,淡黄色或淡绿色。

8.3.3 二级

形态差别较大,直径 2 mm~8 mm,干细胞团中混有褐色部分,淡黄色或淡绿色。

9 生产记录

每天填写生产记录,将干细胞生长状态、出现的问题、干细胞扩增、生产、采收等环节应清晰记录,并建立生产记录档案。

参 考 文 献

- [1] NY/T 2306—2013 花卉种苗组培快繁技术规程
-