

## 细胞培养肉技术及产业化进展与挑战

丁世杰, 李春保, 周光宏\*

(南京农业大学食品科技学院 国家肉品质量安全控制工程技术研究中心 教育部肉品加工与质量控制重点实验室  
农业农村部肉品加工重点实验室 江苏省肉类生产与加工质量控制协同创新中心 南京 210095)

**摘要** 细胞培养肉是利用动物细胞培养生产可食用肉类,具有减少动物屠宰,缩短肉品生产周期,绿色高效等诸多潜在优势,是一种未来动物蛋白生产新技术。发展细胞培养肉符合我国可持续发展、低碳农业和“大食物观”的总体战略目标。细胞培养肉的核心目标是生产与畜牧养殖肉类相同营养价值和感官特性的肉类产品。近年来,细胞培养肉领域在基础研究和关键技术上快速发展,生产规模逐渐扩大,生产成本大幅降低。本文综述近年来细胞培养肉领域的研究进展,特别是体外生产肌肉、脂肪和结缔组织的培养肉技术。另外,规模化放大生产以及监管检测发展迅速,为培养肉产业化生产奠定了基础。本文旨在为我国的细胞培养肉规模化生产提供参考。

**关键词** 细胞培养肉; 技术进展; 产业化

**文章编号** 1009-7848(2022)12-0033-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.12.004

肉类含有高质量的蛋白质、脂质、矿物质等各类营养素,是人类最重要食品之一。随着全球人口的持续增长和发展中国家收入水平的持续增加,全球肉类消费持续增长,我国的肉类消费增长尤为迅速<sup>[1]</sup>。然而,传统的肉类生产需要消耗大量的自然资源,另外,还存在温室气体排放、动物福利、抗生素滥用等诸多问题<sup>[1-2]</sup>。我国的人均资源占有量远低于世界平均水平,如何高效、绿色的生产肉类,践行大食物观,助力实现“双碳”目标实现,已经成为肉类生产最重要的议题。

细胞培养肉是根据动物肉类的生长和损伤修复机理,通过体外细胞培养生产可食用肉类,是具有实现肉类高效、绿色生产潜力的未来食品生产技术<sup>[2-3]</sup>。细胞培养肉技术能够将物质和营养直接用于肉类生产,从而减少畜禽动物转化的过程。以猪肉为例,细胞培养肉可以减少 50%的土地使用,减少 70%的温室气体排放,肉的生产周期也可以从 9 个月缩减到 1 个月左右<sup>[3]</sup>。然而,细胞培养肉在种子细胞、培养基、放大生产工艺以及最终的组织工程形成产品方面仍有较多的技术难点,从而制约了细胞培养肉的产业化进程<sup>[2]</sup>。

近年来,细胞培养肉领域在基础研究和关键技术上快速发展,生产规模逐渐扩大,生产成本大幅降低。美国一家初创公司在 2020 年成功通过新加坡食品安全署的监管审批,成为全球第 1 个可以在主权国家售卖细胞培养肉的公司。2022 年 11 月 16 日,美国食品药品监督管理局正式宣布,批准一家美国初创公司的细胞培养肉产品可供食用,表明主流监管机构对于细胞培养肉的认可。该公司于 2021 年底已建成年产 23 t 的细胞培养肉中试工厂。另外,以色列一家初创公司于 2021 年底完成 3.47 亿美元的 B 轮融资,其中试工厂可达到日产 500 kg 细胞培养肉,并将在美国建设大型培养肉中试工厂。在国内,继南京农业大学周光宏教授团队研发出中国第 1 块细胞培养肉之后<sup>[4-5]</sup>,国内一些等科研院所也在积极推动和加速细胞培养肉技术研究。近几年国内还成立了多家细胞培养肉初创公司,共同推动细胞培养肉的产业化生产,细胞培养肉行业发展迅速。

本文首先综述肉中的关键营养成分,特别是蛋白和脂肪的重要性,提出细胞培养肉的生产需要优先生产肌肉蛋白、脂肪和基质蛋白。随后,文章总结了细胞培养肉在种子细胞建立、无血清培养基研发、生物反应器放大培养、组织工程、产品研制以及安全性检测等方面的进展。本文旨在为细胞培养肉的研发和产业化生产提供参考。

收稿日期: 2022-12-02

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(32101991)

第一作者: 丁世杰,男,博士,副教授

通信作者: 周光宏 E-mail: ghzhou@njau.edu.cn

## 1 肉的组成

肉一般含有70%~75%的水分,20%~22%的蛋白质,1%~10%的脂质以及维生素和矿物质,是非常优质的蛋白类食品。肌肉蛋白根据其位置和功能可分为肌细胞相关蛋白(肌浆蛋白、肌原纤维蛋白等)和基质蛋白<sup>[6]</sup>。肌细胞相关蛋白占肉中蛋白质总量的80%~90%<sup>[7]</sup>,是肉类中最重要的营养蛋白。基质蛋白占肌肉总蛋白的10%~20%,主要包括胶原蛋白、弹性蛋白和蛋白多糖等<sup>[8]</sup>。胴体脂肪含有约80%~85%的甘油三酯(包括饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸等)、5%~10%的水分和约10%的结缔组织<sup>[9]</sup>。肉类还含有大量的维生素和矿物质(如B族维生素、肌红蛋白所含的铁)等<sup>[8]</sup>,是维生素和矿物质等营养素的良好来源。

上述肉中的重要营养成分都来源于肌肉组织中的细胞及其产物。肌细胞是多核的纤维状细胞,由肌肉前体细胞分化而来,在出生后通过增加肌原纤维蛋白合成实现肌肉增长<sup>[10-11]</sup>。肌细胞是肌肉组织的基本细胞单位,含有肉中最主要的营养物质,如蛋白质(如肌球蛋白、肌红蛋白)、碳水化合物(如糖原颗粒)、脂滴和矿物质等。脂肪细胞是存储脂质最重要的细胞,是脂肪组织的构造单位。脂肪细胞一般是由血管周围细胞产生<sup>[12]</sup>,并且是风味、质地、营养和视觉外观的关键决定因素<sup>[13]</sup>。包裹肌细胞和脂肪细胞的基质蛋白则主要是由成纤维细胞、肌纤维等表达,其中成纤维细胞是最主要表达基质蛋白的细胞<sup>[14]</sup>。另外,平滑肌也具有较强的细胞外基质的分泌能力,参与内脏的组织形成<sup>[15]</sup>。

## 2 细胞培养肉生产流程和基本要素

细胞培养肉是通过动物细胞体外培养和生物制造而生产的供人类食用的肉的组织<sup>[2]</sup>。其一般生产流程是通过分离制备相关的种子细胞系,利用低成本培养基以及生物反应器,实现细胞的规模化放大培养,最后将收集的细胞接种到相应的可食用支架中分化形成肉类<sup>[2,4]</sup>。在最后形成肉类阶段,将收集的细胞与植物蛋白通过挤压拉丝形成与肌肉类似的组织用于食用,从而可以减少细胞在支架材料上分化的环节,也是一种培养肉的生产方式<sup>[16]</sup>。

一般来说,肉类含有70%~75%的水、20%~22%的蛋白质、1%~10%的脂肪、维生素和矿物质<sup>[4]</sup>。在传统肉类的营养成分中,优质蛋白质是肉类最重要的营养成分,因此培养肉首先需要满足蛋白质的供应。在培养肉中,肌肉相关蛋白应该是由分化的肌肉细胞产生。同时,成纤维细胞和平滑肌细胞也能产生细胞外基质相关蛋白。另外,由于血管化等问题,通过组织工程技术仍然不能在体外产生与体内肌肉相同的组织,因此在培养肉的生产中也会使用大量的可食用支架材料<sup>[17]</sup>。支架材料也会提供一部分蛋白来源,并帮助最后形成可食用的组织<sup>[18-19]</sup>。另外,脂肪也是培养肉需要生产的类型,目前通过将具有成脂分化能力的细胞在支架材料中分化,可以形成脂肪酸组成和风味组成与动物脂肪更接近的培养肉脂肪产品<sup>[20-21]</sup>。其它重要的维生素、矿物质和糖类,由于是细胞增殖分化过程中所必需的营养素,因此可以利用培养基等介质,将营养素提供给细胞,最终在培养肉产品中获得。除此之外,肉的质构和口感也非常重要,肌纤维细胞<sup>[6]</sup>、脂肪细胞<sup>[13]</sup>和不同类型的细胞外基质<sup>[15,22]</sup>共同影响肉的质构和口感。在培养肉的制作过程中,使用的支架材料也会影响产品的质构和口感,植物蛋白通过挤压拉丝技术,可以形成类肉的纤维感<sup>[23]</sup>,再通过细胞的培养,可以形成质构各异的培养肉产品<sup>[18,24]</sup>。

总之,培养肉的最低要求应该是生产肌肉细胞、产生基质蛋白的细胞和脂肪细胞其中的一种或多种,结合适宜的支架材料,形成与畜牧肉类及肉类产品口感、质构和营养相似的培养肉产品。未来,随着细胞培养和组织分化技术的进一步完善,成本的进一步降低,能够形成完全由动物细胞培养而成的培养肉产品。

## 3 细胞培养肉研究及产业化进展与挑战

### 3.1 细胞培养肉种子细胞

在培养肉研究初期,周光宏等<sup>[4]</sup>总结了培养肉种子细胞要求:①细胞要易于获取,且能够在体外持续增殖并有较高的肌管分化效率;②在培养过程中,细胞的基因组要相对稳定。随着技术的发展和规模化生产的要求,对培养肉种子细胞有了更多的要求,包括:①种子细胞能够在体外持

续增殖,细胞的基因组要相对稳定,形成生产用细胞系;②在大规模培养过程中,细胞能较好地抵抗剪切力,并能够分化产生肌肉、脂肪或者基质蛋白其中的一种或多种。

培养肉种子细胞,一般以肌肉干细胞<sup>[25]</sup>、脂肪间充质干细胞<sup>[26]</sup>、成纤维细胞<sup>[18]</sup>和平滑肌细胞<sup>[24]</sup>为主。然而,一般肌肉组织中含有的大量细胞类型<sup>[27]</sup>,随着培养的进行,某一种细胞的比例会逐渐升高或降低<sup>[28]</sup>,不利于后续标准化的生产,因此一般需要纯化过程。肌肉干细胞一般利用预贴壁法<sup>[28]</sup>进行纯化。随着干细胞研究的深入,通过肌肉干细胞的表面标志物,利用流式细胞仪可以分选出高纯度的肌肉干细胞<sup>[25,29]</sup>。目前最新的研究发现,在利用 CD56 和 CD29 的分选策略中,依然含有一定比例的成纤维/脂肪前体细胞,后期发现 ITGA5 作为标志物进行分选,可以得到更高纯度的肌肉干细胞<sup>[30]</sup>。同样,脂肪前体细胞,一般由 PDGFRa<sup>+</sup>PDGFRb<sup>+</sup>或 PDGFRa<sup>+</sup>血管周围细胞产生<sup>[12]</sup>,利用建立的流式分选方法,也可以得到高纯度的猪脂肪前体细胞<sup>[31]</sup>。而对于有胶原分泌能力的成纤维细胞和平滑肌细胞,一般采用贴壁法直接分离<sup>[18,24]</sup>。

有了初期的种子细胞后,要想在生产端能够有更大规模的应用,种子细胞还需具备一定的永生能力<sup>[16,32]</sup>。一方面,永生可以通过基因编辑完成<sup>[32]</sup>,出于食品安全监管的角度,自发永生化的细胞更适宜现阶段培养肉的产业化生产<sup>[16]</sup>。自发永生化的细胞能够在体外长期稳定增殖,并且更容易在长期驯化悬浮过程中保持细胞持续增殖的特性。另一方面,种子细胞系需要具备在体外长期培养后,至少具有成肌、成脂或者分泌基质蛋白 3 个分化能力之一,才能成为培养肉产业化生产真正的种子细胞。

### 3.2 无血清培养基

培养基是细胞培养肉生产的“饲料”,主要给种子细胞的增殖、分化等过程提供合适的营养,并维持特定的细胞命运过程。传统的血清主要来源于动物,存在批次间不稳定,易于受供体病毒污染等问题<sup>[33]</sup>。研制无血清培养基,甚至是化学成分明确的培养基,有助于培养基的标准化生产。通过对相关成分成本进行优化,还能够实现培养基的低成本生产。

近年来,随着相关研究的深入,细胞培养肉领域在无血清甚至化学成分明确的培养基研究上有了巨大的发展。研究人员通过早期基于转录组学和蛋白组学,利用增殖分化的关键因子,建立了猪肌肉干细胞增殖分化无血清培养基配方<sup>[34-35]</sup>。还有研究者利用转录组学,根据特定的受体蛋白变化以及关键的通路变化,研制了增殖以及分化的化学成分明确的培养基<sup>[30,36-37]</sup>。基于早期的胚胎干细胞 E8 的研究成果以及高稳定性的 FGF-G3 生长因子,研究人员研制了 B8 培养基,适用于牛肌肉干细胞增殖的无血清增殖培养基<sup>[38-39]</sup>。另外,在生长因子的表达上,随着代谢工程和合成生物学的发展,对生长因子的改造使其稳定性有了极大提高,从而减少了生长因子的使用量,提高了生长因子的使用效率,并降低了培养基的整体成本<sup>[38,40]</sup>。

得益于组学技术(转录组、蛋白组和代谢组)的快速发展,以及高内涵显微设备的快速发展及应用,培养基的优化速度有了快速的提升。由于培养基中多达数十种甚至上百种物质,相关物质及其使用浓度的互相影响也很难直接通过试验阐述清楚。而通过高通量的成像设备提供的数据库,利用人工智能进行机器学习和预测<sup>[41]</sup>,再利用高通量设备对人工智能推荐的配方组合进行验证,可以达到优化培养基配方的目的。国内外已有大量的培养基公司在进行大规模培养基生产,这为培养肉后期的培养基产业化奠定坚实的基础。

### 3.3 种子细胞悬浮培养

作者前期的研究发现,幼年小猪 1 g 肌肉组织中约含有  $10^4$  个肌肉干细胞,而生产 1 kg 培养肉所需要的细胞数为  $10^{10}$ ~ $10^{11}$  个,因此,单个细胞至少需要增殖  $10^6$  个才能实现 1 g 肉生产 1 kg 细胞培养肉<sup>[5]</sup>。二维培养方式存在表面积体积比低,人力使用量大,易污染等诸多问题。要想实现有效率的扩增,甚至是未来更大规模的培养,则必须实现细胞的悬浮培养<sup>[42]</sup>。悬浮培养的方式主要包括微载体悬浮培养、固定化培养,聚集体悬浮培养以及单细胞悬浮培养等方法<sup>[43]</sup>。肌肉干细胞由于最早的贴壁培养特性,目前已经有多种方式实现了肌肉干细胞的微载体培养,包括使用 cytodex 系列微载体<sup>[44]</sup>以及 3D 多孔胶原微载体<sup>[45]</sup>。同样的培养方式在间充质干细胞的放大培养中也有应用<sup>[20,46]</sup>。

然而,微载体上承载的细胞数相对有限,单次微载体的扩增的细胞数目极限约为 $10^5\sim 10^6$ 个每毫升<sup>[45,47]</sup>,细胞在微载体上的单次扩增倍数仅为10~20倍,消化放大困难,操作也较为复杂,不利于更大规模的细胞培养。

另一种更为高效的培养方式为细胞无载体悬浮培养,其操作简单,放大方便,成本低,然而,需要前期对细胞进行驯化<sup>[16]</sup>。胚胎干细胞由于自身的克隆生长特性,因此可以实现聚集体的无载体悬浮培养<sup>[43]</sup>,然而,该种方式不利于对细胞密度敏感的纤维类细胞。单细胞悬浮或者少量聚集体的悬浮培养方式更值得借鉴。中国仓鼠卵巢细胞是一株成纤维细胞,最早是贴壁培养方式并逐渐驯化成悬浮培养方式,从而广泛地应用于生物制药行业,其驯化培养过程值得借鉴<sup>[48]</sup>。在培养肉领域已有企业利用鸡的成纤维细胞系,实现了无载体的悬浮培养<sup>[49]</sup>。也有企业利用从鸡的肌肉组织中分离的成纤维细胞,通过驯化形成了自己的可无载体悬浮培养的细胞系<sup>[16]</sup>。作者团队也利用自研的化学成分明确的培养基,对纯化的猪肌肉干细胞进行驯化培养<sup>[50]</sup>,从而实现了细胞的无载体培养从0到1的突破。未来,通过进一步筛选单克隆,优化培养基组成,来提高种子细胞悬浮培养的效率,从而降低培养肉的生产成本。

各类生物反应器类型中,在生物制药行业广泛应用的搅拌桨叶式反应器将是细胞培养肉的良好选择,另外,在制药行业积累的逐级放大的经验也有利于细胞培养肉的规模放大,从而节约配套和人员成本<sup>[48]</sup>。国外企业还利用过滤体系和氨清除体系,循环利用培养基,从而提高了培养基的使用效率,进一步降低了培养肉的生产成本<sup>[51]</sup>。在美国一家细胞培养肉公司最新的中试工厂视频中,可以看到不同体积,逐级放大的中试生物反应器,展示了培养肉中试工厂的生产状态。

### 3.4 组织工程分化

细胞培养肉是将细胞接入材料中,利用细胞自身的分化特性和支架材料特性,最终形成与肉类似营养、质构和风味的终产品。因此,除了细胞本身需要具备分化成肌肉、脂肪或者形成基质蛋白的特性外,支架对于培养肉也非常重要<sup>[52]</sup>。在支架材料方面,目前适用于培养肉工业化生产的主

要支架类型是多孔支架和水凝胶支架。支架材料应来源于植物或者微生物的多糖和蛋白类的材料,如大豆蛋白、玉米蛋白、海藻酸、纤维素等。结构仿真是该领域技术难点之一。

近年来,结合支架材料进行培养肉生产的技术发展迅速。以色列研究人员利用组织化的大豆拉丝蛋白,结合多种细胞共培养,可以在植物支架上实现肌细胞分化和胶原蛋白生产<sup>[18]</sup>。然而,在分化的过程中,仍然需要加上动物源血纤蛋白来帮助细胞分化,还存在一定的应用局限<sup>[18]</sup>。本团队通过研究细胞特性,发现细胞外基质分泌能力较强的平滑肌和间充质干细胞可以在无动物源添加物的帮助下,很好地附着在花生蛋白支架上,并可以分化形成具有平滑肌和脂肪特性的培养肉产品<sup>[24,26]</sup>。细胞分化后,可以改变原有的花生蛋白支架的质构和风味,从而形成口感风味独特的培养肉产品<sup>[24,26]</sup>。目前,将细胞接种到结构化的植物支架中,生产具有可接受的纹理和味道的培养肉产品,已成为培养肉领域的一种趋势<sup>[53]</sup>。该方法虽可以快速实现较大肉类组织的构建,但存在组织功能差、细胞分布不均匀等缺点。在组织工程领域,还存在预混细胞和生物相容性材料,利用3D打印或接种相应的模具分化形成组织的方式,目前在培养肉领域也有相应的应用<sup>[5,31,54-56]</sup>。这种方式可以形成很好的脂肪培养肉产品<sup>[20,31]</sup>,然而,在形成肌肉组织过程中,目前仍需要一定的动物源水凝胶或者RGD交联的海藻多糖,在未来培养肉生产还需要更多的材料研究成果<sup>[5,56]</sup>。另外,当多细胞共同培养时,利用细胞自身命运特点,研制在3D条件下共分化方式也非常重要。

除了生物材料外,能够应用的大规模分化生物反应器或者自动化设备也是培养肉产业化生产的关键。以色列初创公司将收获的细胞和植物蛋白混合,直接进行挤压拉丝形成培养肉产品<sup>[16]</sup>。美国初创公司已经建立生产线,产品的生产方式是利用在反应器中收集的细胞片来组合成细胞培养肉,这样的方式如何实现更大规模的自动化生产还值得研究<sup>[57]</sup>。

### 3.5 食品化技术

肉的颜色、风味、滋味以及加工特性都是依赖于肉中的蛋白(肌红蛋白、肌原纤维蛋白、胶原蛋

白)、脂肪等<sup>[4]</sup>。由于细胞培养成本和组织工程技术的原因,细胞培养肉目前很难真正做成一整块肉,因此需要考虑一些关键成分的富集或者体外表达。以肌红蛋白为例,目前肌细胞分化很难达到与真正肉一样的程度,组织中的肌红蛋白表达量很少<sup>[5,54,58-59]</sup>,通过外源添加或者诱导肌细胞表达肌红蛋白可以改善产品肉色。目前已有研究利用大肠杆菌和酵母,高效表达血红蛋白和肌红蛋白<sup>[60-61]</sup>,未来可以作为添加物来改善细胞培养肉的色泽。此外,研究肌细胞的肌红蛋白合成规律,促进肌红蛋白在分化中的形成和成熟<sup>[58]</sup>,也能够帮助形成较好色泽的培养肉产品。

目前细胞培养肉产品还需要考虑支架材料在最终形成产品中的作用。如美国初创公司利用支架材料和扩大培养的细胞,采用双螺杆挤压形成培养肉产品,植物支架形成的纤维感能够帮助最后形成更好质构的产品<sup>[16]</sup>。植物支架(蛋白或多糖)本身就可以形成特定风味和质构,加上利用细胞培养所形成的蛋白和脂肪,可以让终产品具备更多肉的特性。例如,脂肪细胞在支架上分化后形成的脂肪酸组成与猪脂肪更接近<sup>[20,26]</sup>。而平滑肌细胞在分化后,产生了大量的三型胶原和弹性蛋白,改变了原有材料的硬度和咀嚼性<sup>[24]</sup>,这些会在加工中有重要的作用。最后,未来细胞培养肉也会出现定制化的市场需求,根据口感软硬度、肥瘦细胞比例等不同,定制更多样化的产品。

### 3.6 培养肉产品安全评价与管理规范

作为一种新型的肉类生产方式,细胞培养肉产品与传统的肉类安全评价和监管方式完全不同。在我国其作为新食品原料,由国家卫生健康委员会直属的国家食品安全风险评估中心进行评估监管。目前,美国、欧盟等国家和地区正积极的摸索搭建细胞培养肉产品的食品安全监管体系搭建<sup>[2-3]</sup>。2020年,美国初创企业的细胞培养鸡肉产品,成功在新加坡获批上市销售,成为全世界首个获批销售的培养肉企业<sup>[62]</sup>。另外,美国时间2022年11月16日,美国食品药品监督管理局正式宣布批准了美国初创企业研制的一种用鸡细胞培养的肉制品可供食用<sup>[49]</sup>,这标志着监管机构对于细胞培养肉行业的认可,相信未来会有更多的国家和地区批准细胞培养肉的生产。

根据目前国际上现有的细胞培养肉法规以及可能涉及细胞培养肉监管的相关国家的新食品法规条例,细胞系、培养基、支架等生产原辅料以及生产过程中可能产生的食品风险均被纳入监管细则之中。对于细胞系的监管,新加坡食品局要求细胞系不含感染因子(如病毒、细菌、真菌、朊病毒)且活检组织无动物疾病<sup>[63]</sup>。欧盟则对于细胞身份的信息认证以及来源有所要求<sup>[64]</sup>。由于培养基成分的复杂性,各国对于其在细胞培养肉产品生产过程中的控制都尤为重视。在9月26日发布的最新版新加坡《新食品和新食品原料安全评估要求》中,新增了对于培养基中生物成分的安全性评估要求,根据各成分不同的功能和作用,分为3类进行监管<sup>[63]</sup>。对于产品支架的使用,各国主要关注其过敏性和可食用性,以及对其可能在生产过程中代谢的物质要进行风险评估和监控<sup>[63-64]</sup>。除此以外,各国对于细胞在培养过程中的基因变化问题也尤为关注<sup>[49,63]</sup>。新加坡食品局要求相关企业提供文献综述,基因测序,转录组学/蛋白组学等方法来证明基因的不稳定性不会导致终产品中有构成食品安全风险的物质产生<sup>[63]</sup>。各国要求新食品需要进行的一系毒理学检测,对于细胞培养肉产品来说,也是对基因不稳定性的另一项监管措施<sup>[63-64]</sup>。同时,对于产品上市后的监管,各国均倾向于在产品标签上作出明确区别于传统肉制品的要求,以便减少对消费者的误导。综上,除了对一些诸如过敏原,致病菌,化学物理风险等常规性食品安全危害进行监管防控外,针对细胞肉产品,还需要重点关注细胞系的安全,培养基及支架的成分安全,以及基因的不稳定性对于产品造成的潜在安全风险。

## 4 结语

近几年培养肉在种子细胞、培养基、生产工艺、组织工程以及食品化技术等方面得到快速发展,培养肉的成本在快速降低,国际头部公司已经建成年产数十吨的中试生产线。另外,政府部门也在积极推动细胞培养肉的安全性评估,撰写、更新监管指南,推动培养肉快速走向消费市场。我国是世界第一大肉类生产和消费大国,建立自主知识产权的细胞培养肉技术体系,保障未来肉类供应

安全尤为重要。本文总结了细胞培养肉技术及产业化进展与挑战,希望能为我国培养肉产业的发展提供借鉴和参考。

### 参 考 文 献

- [1] GODFRAY H C J, AVEYARD P, GARNETT T, et al. Meat consumption, health, and the environment [J]. *Science*, 2018, 361 (6399): eaam5324.
- [2] POST M J, LEVENBERG S, KAPLAN D L, et al. Scientific, sustainability and regulatory challenges of cultured meat[J]. *Nature Food*, 2020, 1(7): 403–415.
- [3] DING S, POST M J, ZHOU G. Perspectives on cultured meat[J]. *Food Materials Research*, 2021, 1 (1): 1–5.
- [4] 周光宏, 丁世杰, 徐幸莲. 培养肉的研究进展与挑战[J]. *中国食品学报*, 2020, 20 (5): 1–11.  
ZHOU G H, DING S J, XU X L. Progress and challenges in cultured meat[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20 (5): 1–11.
- [5] ZHU H, WU Z, DING X, et al. Production of cultured meat from pig muscle stem cells[J]. *Biomaterials*, 2022, 287: 121650.
- [6] 周光宏. 畜产品加工学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2019: 28–34.  
ZHOU G H. *Animal product processing*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2019: 28–34.
- [7] STRASBURG G M, XIONG Y L. Fennema's food chemistry [M]. Fifth Edition. Boca Raton: CRC Press, 2017: 930.
- [8] LÓPEZ-BOTE C. Chapter 4 – Chemical and biochemical constitution of muscle[M]// Toldra F, editor. Valencia: Woodhead Publishing, 2017: 99–158.
- [9] FEINER G. Chapter 1 – Meat and fat–salami[M]. Melbourne: Academic Press, 2016: 20–30.
- [10] CHAL J, POURQUIE O. Making muscle: skeletal myogenesis *in vivo* and *in vitro*[J]. *Development*, 2017, 144(12): 2104–2122.
- [11] 张江丽. 胚胎发育中骨骼肌组织的形成及调控[J]. *安徽农业科学*, 2007 35(21): 6447–6448, 6566.  
ZHANG J L. Morphogenesis and regulation of skeletal muscle tissue in the embryo development [J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2007 35(21): 6447–6448, 6566.
- [12] HAN X, ZHANG Z, HE L, et al. A suite of new dre recombinase drivers markedly expands the ability to perform intersectional genetic targeting [J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(6): 1160–1176.e7.
- [13] FISH K D, RUBIO N R, STOUT A J, et al. Prospects and challenges for cell–cultured fat as a novel food ingredient[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 98: 53–67.
- [14] URUIOLO A, QUARTA M, MORBIDONI V, et al. Collagen VI regulates satellite cell self–renewal and muscle regeneration[J]. *Nature Communications*, 2013, 4(1): 1964.
- [15] GRAHAM M F, DRUCKER D E, DIEGELMANN R F, et al. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture[J]. *Gastroenterology*, 1987, 92(2): 400–405.
- [16] NAHMIAS Y. Anchorage–independent cells and use thereof: US/2021/395690A1[P]. 2021–12–23.
- [17] BOMKAMP C, SKAALURE S C, FERNANDO G F, et al. Scaffolding biomaterials for 3D cultivated meat: Prospects and challenges[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9 (3): e2102908.
- [18] BEN–ARYE T, SHANDALOV Y, BEN–SHAUL S, et al. Textured soy protein scaffolds enable the generation of three–dimensional bovine skeletal muscle tissue for cell–based meat[J]. *Nature Food*, 2020, 1 (4): 210–220.
- [19] JONES J D, REBELLO A S, GAUDETTE G R. Decellularized spinach: An edible scaffold for laboratory–grown meat[J]. *Food Bioscience*, 2021, 41(2/3): 100986.
- [20] DOHMEN R G J, HUBALEK S, MELKE J, et al. Muscle–derived fibro–adipogenic progenitor cells for production of cultured bovine adipose tissue[J]. *NPJ Sci Food*, 2022, 6 (1): 6.
- [21] ZAGURY Y, IANOVICI I, LANDAU S, et al. Engineered marble–like bovine fat tissue for cultured meat[J]. *Commun Biol*, 2022, 5(1): 927.
- [22] DORAN A C, MELLER N, MCNAMARA C A. Role of smooth muscle cells in the initiation and early progression of atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(5): 812–819.
- [23] SHA L, XIONG Y L L. Plant protein–based alternatives of reconstructed meat: Science, technology, and challenges[J]. *Trends in Food Science & Tech-*

- nology, 2020, 102: 51–61.
- [24] ZHENG Y Y, CHEN Y, ZHU H Z, et al. Production of cultured meat by culturing porcine smooth muscle cells *in vitro* with food grade peanut wire-drawing protein scaffold[J]. Food Res Int, 2022, 159(21): 111561.
- [25] DING S, SWENNEN G N M, MESSMER T, et al. Maintaining bovine satellite cells stemness through p38 pathway[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 10808.
- [26] SONG W J, LIU P P, ZHENG Y Y, et al. Production of cultured fat with peanut wire-drawing protein scaffold and quality evaluation based on texture and volatile compounds analysis[J]. Food Res Int, 2022, 160(4): 111636.
- [27] WOSCZYNA M N, RANDO T A. A Muscle stem cell support group: Coordinated cellular responses in muscle regeneration[J]. Dev Cell, 2018, 46(2): 135–143.
- [28] GHARAIBEH B, LU A, TEBBETS J, et al. Isolation of a slowly adhering cell fraction containing stem cells from murine skeletal muscle by the preplate technique[J]. Nature Protocols, 2008, 3(9): 1501–1509.
- [29] DING S, WANG F, LIU Y, et al. Characterization and isolation of highly purified porcine satellite cells[J]. Cell Death Discov, 2017, 3(1): 17003.
- [30] MESSMER T, DOHMEN R G, SCHAEKEN L, et al. Single-cell analysis of bovine muscle-derived cell types for cultured meat production[J]. BioRxiv: 506369. (2022-09-02) [2022-12-03]. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.09.02.506369v2>.
- [31] SONG W J, LIU P P, MENG Z Q, et al. Identification of porcine adipose progenitor cells by fluorescence-activated cell sorting for the preparation of cultured fat by 3D bioprinting[J]. Food Research International, 2022, 162(9): 111952.
- [32] G N. Methods for extending the replicative capacity of somatic cells during an *ex vivo* cultivation process: US/2022/251550A1[P]. 2019-01-24.
- [33] VALK J V D, BRUNNER D, SMET K D, et al. Optimization of chemically defined cell culture media—Replacing fetal bovine serum in mammalian *in vitro* methods[J]. Toxicology in Vitro, 2010, 24(4): 1053–63.
- [34] 周光宏, 吴中元, 丁世杰, 等. 一种化学成分明确的用于肌源性细胞体外增殖的培养基: CN202011553454.3[P]. 2022-06-03.
- ZHOU G H, WU Z Y, DING S J, et al. A chemically defined medium for the proliferation of myogenic cells *in vitro*: CN202011553454.3[P]. 2022-06-03.
- [35] 周光宏, 吴中元, 徐幸莲, 等. 一种用于肌肉干细胞体外分化的化学成分明确的培养基: ZL202011558188.3[P]. 2022-04-29.
- ZHOU G H, WU Z Y, Xu X L, et al. A chemically defined medium for the differentiation of muscle stem cells *in vitro*: ZL202011558188.3[P]. 2022-04-29.
- [36] MESSMER T, KLEVERNIC I, FURQUIM C, et al. A serum-free media formulation for cultured meat production supports bovine satellite cell differentiation in the absence of serum starvation[J]. Nature Food, 2022, 3(1): 74.
- [37] KOLKMANN 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]. Front Bioeng Biotechnol, 2022, 10: 895289.
- [38] KUO H H, GAO X, DEKEYSER J M, et al. Negligible-cost and weekend-free chemically defined human iPSC culture[J]. Stem Cell Reports, 2020, 14(2): 256–270.
- [39] 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]. Commun Biol, 2022, 5(1): 466.
- [40] DVORAK P, BEDNAR D, VANACEK P, et al. Computer-assisted engineering of hyperstable fibroblast growth factor 2[J]. Biotechnol Bioeng, 2018, 115(4): 850–862.
- [41] 陈亮. 一种基于人工智能的基础培养基配方开发方法及系统: ZL202011033081.7[P]. 2020-09-27.
- CHEN L. The invention relates to a method and system for developing basic medium formula based on artificial intelligence; ZL202011033081.7[P]. 2020-09-27.
- [42] BODIOU V, MOUTSATSOU P, POST M J. Microcarriers for upscaling cultured meat production[J]. Front Nutr, 2020, 7: 10.
- [43] MORITZ M S M, VERBRUGGEN S E L, POST M J. Alternatives for large-scale production of cultured beef: A review[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2015, 14(2): 208–216.

- [44] VERBRUGGEN S, LUINING D, VAN ESSEN A, et al. Bovine myoblast cell production in a micro-carriers-based system[J]. *Cytotechnology*, 2017, 70 (2): 503-12.
- [45] LIU Y, WANG R, DING S, et al. Engineered meatballs via scalable skeletal muscle cell expansion and modular micro-tissue assembly using porous gelatin micro-carriers[J]. *Biomaterials*, 2022, 287 (1996): 121615.
- [46] SONG W, LIU P, LI H, et al. Large-scale expansion of porcine adipose-derived stem cells based on microcarriers system for cultured meat production[J]. *Foods*, 2022, 11(21): 3364.
- [47] YAN X, ZHANG K, YANG Y, et al. Dispersible and dissolvable porous microcarrier tablets enable efficient large-scale human mesenchymal stem cell expansion[J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2020, 26 (5): 263-275.
- [48] LEMIRE L, PHAM P L, DUROCHER Y, et al. Practical considerations for the scale-up of Chinese hamster ovary (CHO) cell cultures[M]. Pörtner R, editor. *Cell Culture Engineering and Technology*. Montréal: Springer International Publishing, 2021: 367-400.
- [49] Food and Drug Administration. FDA completes first pre-market consultation for human food made using animal cell culture technology[EB/OL]. (2022-11-16)[2022-11-16]. <https://www.fda.gov/food/cfsan-constituent-updates/fda-completes-first-pre-market-consultation-human-food-made-using-animal-cell-culture-technology>.
- [50] 周光宏, 丁世杰, 朱浩哲, 等. 一种自发永生化的猪肌源性干细胞系及其应用: CN202211309581.8[P]. 2022-10-25.
- ZHOU G H, DING S J, ZHU H Z, et al. A spontaneous immortalized porcine muscle derived stem cell line and its application: CN202211309581.8[P]. 2022-10-25.
- [51] NAHMIAS Y. Systems and methods for recycling cell culture medium: US/2021/63186334[P]. 2021-05-10.
- [52] BOMKAMP C, SKAALURE S C, FERNANDO G F, et al. Scaffolding biomaterials for 3D cultivated meat: Prospects and challenges[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2021, 9(3): e2102908.
- [53] XIANG N, YUEN J S K, JR. STOUT A J, et al. 3D porous scaffolds from wheat glutenin for cultured meat applications[J]. *Biomaterials*, 2022, 285 (1): 121543.
- [54] KANG D H, LOUIS F, LIU H, et al. Engineered whole cut meat-like tissue by the assembly of cell fibers using tendon-gel integrated bioprinting [J]. *Nat Commun*, 2021, 12 (1): 5059.
- [55] LI Y, LIU W, LI S, et al. Porcine skeletal muscle tissue fabrication for cultured meat production using three-dimensional bioprinting technology[J]. *Journal of Future Foods*, 2021, 1 (1): 88-97.
- [56] IANOVICI I, ZAGURY Y, REDENSKI I, et al. 3D-printable plant protein-enriched scaffolds for cultivated meat development [J]. *Biomaterials*, 2022, 284: 121487.
- [57] SCHULZE E. Premarket notice for integral tissue cultured poultry meat[EB/OL]. (2022-11-16)[2022-11-16]. <https://www.fda.gov/media/163262/download>.
- [58] GHOSH A, DAI Y, BISWAS P, et al. Myoglobin maturation is driven by the hsp90 chaperone machinery and by soluble guanylyl cyclase[J]. *Faseb Journal*, 2019, 33(9): 9885-9896.
- [59] SIMSA R, YUEN J, STOUT A, et al. Extracellular heme proteins influence bovine myosatellite cell proliferation and the color of cell-based meat[J]. *Foods*, 2019, 8(10): 521.
- [60] ZHANG B, ZHAO X, WANG Z, et al. Efficient secretory expression and purification of food-grade porcine myoglobin in *Komagataella phaffii*[J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(35): 10235-10245.
- [61] ZHAO X, ZHOU J, DU G, et al. Recent advances in the microbial synthesis of hemoglobin[J]. *Trends Biotechnol*, 2021, 39 (3): 286-297.
- [62] COHEN M, IGNASZEWSKI E, MURRAY S, et al. 2021 State of the industry report Cultivated meat and seafood[R]. Washington DC: Good Food Institute, 2021.
- [63] Singapore Food Agency. Requirements for the safety assessment of novel foods and novel food ingredients. Version dated 26 Sep 2022 [EB/OL]. (2022-09-26)[2022-10-05]. [https://www.sfa.gov.sg/docs/default-source/food-import-and-export/Requirements-on-safety-assessment-of-novel-foods\\_26Sep.pdf](https://www.sfa.gov.sg/docs/default-source/food-import-and-export/Requirements-on-safety-assessment-of-novel-foods_26Sep.pdf).
- [64] TURCK D, BRESSON J L, BURLINGAME B, et



al. Guidance on the preparation and presentation of an application for authorisation of a novel food in

the context of Regulation (EU) 2015/2283[J]. EFSA Journal, 2016, 14(11): e04594.

## Progress and Challenge of Cultured Meat Technology and Industrialization

Ding Shijie, Li Chunbao, Zhou Guanghong\*

(College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, National Center of Meat Quality and Safety Control, Ministry of Science and Technology, Key Laboratory of Meat Processing and Quality Control, Ministry of Education, Key Laboratory of Meat Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Jiangsu Collaborative Innovative Center of Meat Production, Processing, and Quality and Safety Control, Nanjing 210095)

**Abstract** Cultured meat is the use of animal cell culture to produce edible meat, which has many potential advantages such as animal welfare, potential high efficiency and so on. It is a future animal protein production technology. The core goal of cultured meat is to produce meat products with the same nutritional value and sensory properties as livestock raised meat. In recent years, the field of cultured meat has developed rapidly in key technologies. The production scale has gradually expanded and the production cost has been greatly reduced. This paper reviews the recent advances in the field of cultured meat, especially *in vitro* production of muscle, fat and connective tissue. In addition, large-scale production, safety evaluation and regulatory are also developing rapidly, which lays the foundation for the industrialization of meat production. This paper will provide reference for the large-scale production of cultured meat in China.

**Keywords** cultured meat; technology progress; industrialization