

## **Driving-M<sup>®</sup> PK15 Cell Media**

### **Prol<sup>™</sup>-S001S PK15 细胞无血清培养基使用说明书**

#### **描述**

Prol<sup>™</sup>-S001S PK15 细胞无血清培养基是上海倍谱基生物科技有限公司针对 PK15 细胞生长和代谢的特点开发的具有自主知识产权的无血清培养基，其特点为：

- 完全无血清体系。
- 不含任何动物源成分。
- 无需添加血清或血浆。
- 支持 PK15 细胞高密度培养和高效增殖。
- 支持圆环病毒的高效扩增。

#### **配方**

Prol<sup>™</sup>-S001S PK15 细胞无血清培养基配方知识产权归上海倍谱基生物科技有限公司所有，如需获悉额外信息，请与公司技术支持部门联系。

#### **声明**

请参照 Prol<sup>™</sup>-S001S PK15 细胞无血清培养基产品说明书使用本产品，并依据本产品附带的化学品安全技术说明书（MSDS）处置意外情况。

#### **保存**

- 本品应保存在 2-8℃ 环境中，避免日光直射。
- 本产品极易吸潮，开封后应立即使用，如需继续保存，建议采用热封、密封夹等手段严格密封开启处，以防产品受潮失效。

#### **产品失效**

本产品为淡黄色粉末，具有很好的流动性，密封保质期为壹年。若出现以下情况可认为本产品失效，请及时与上海倍谱基生物科技有限公司的技术支持部门/售后服务部门联系。

- 干粉内出现不易粉碎的块状物。
- 干粉出现潮解。
- 配制后溶液具有肉眼可见的不溶物。

## 培养基配制

(1) 根据表 1 所示配方进行 Proli™-S001S 培养基的配制。

组分	浓度
Proli™-S001S 干粉	27.05 g/L
碳酸氢钠	2.00 g/L

表 1. Proli™-S001S 培养基配方表

(2) 称取最终培养基配制体积 100% 的水至培养基配制容器中。配制时应使用超纯水或注射用水及以上标准的水，水温应控制在 28-32℃。

(3) 开启培养基配制容器的混合系统，充分搅拌，搅拌时须避免气泡的产生。

(4) 准确称取 27.05 g/L 的 Proli™-S001S 干粉，靠近液面或使用均质机等专用设备将干粉加入至配制容器中，充分搅拌 20-30 分钟。

(5) 使用 5 mol/L 的氢氧化钠溶液缓慢滴加至步骤 (4) 所配制溶液中，将其 pH 值调整至 6.1-6.6，充分搅拌 10-20 分钟，推荐氢氧化钠添加量为 0.25 g/L。

(6) 准确称取 2.00 g/L 的碳酸氢钠粉末，靠近液面或使用均质机等专用设备将碳酸氢钠粉末加入至配制容器中，充分搅拌 10-20 分钟。

(7) 使用 1mol/L 盐酸溶液将培养基 pH 值调整至 7.0-7.4 (若需)。

(8) 使用脉冲泵或压缩空气 (3-15 psi) 经  $\leq 0.22 \mu\text{m}$  孔径的无菌滤膜对 Proli™-S001S 培养基溶液进行无菌过滤。

(9) 配制完毕的培养基液体应存放于 2-8℃ 的避光环境中，保质期为一个月。

## 培养基使用

### 细胞驯化

对于原来培养在 DMEM+10%FBS 或其他含血清基础培养基 (以下称原始培养基) 中的贴壁 PK15 细胞，可使用本培养基驯化为无血清悬浮状态。

### 直接驯化

(1) 选择汇合度 80% 以上的贴壁细胞，弃去培养液，使用无菌 PBS 清洗两遍，吸弃所有液体后，加入 0.25% 胰酶，充分浸润细胞，弃去多余胰酶，37℃ 消化至细胞变圆 (约 5-10

分钟)，使用原含血清的基础培养基终止消化，将细胞完全吹打下来。

(2) 将消化下来的细胞以 190 g 离心 5 分钟，弃去上清，使用 Proli™-S001S 培养基重悬细胞并转移至 125 ml 摇瓶中，接种密度控制在  $0.8-1.0 \times 10^6$  cells/ml。

(3) 置于 37°C，5% CO<sub>2</sub> 条件下，在转速 110-130 rpm 的摇床上培养。

(4) 培养 48 小时后，若细胞密度高于  $2.0 \times 10^6$  cells/ml 且活率高于 85%，稀释细胞至  $0.8-1.0 \times 10^6$  cells/ml；若细胞密度低于  $2.0 \times 10^6$  cells/ml，可考虑 190 g 离心 5 分钟，弃去上清，使用新鲜培养基重悬，浓缩细胞至  $0.8-1.0 \times 10^6$  cells/ml。

(5) 重复步骤 (3) - (4)，直至连续传代五次以上细胞比生长速率均高于  $0.5 d^{-1}$ ，细胞活率高于 90% 时，可认为无血清驯化成功。

### 逐步驯化

(1) 选择汇合度 80% 以上的贴壁细胞，弃去培养液，使用无菌 PBS 清洗两遍，吸弃所有液体后，加入 0.25% 胰酶，充分浸润细胞，弃去多余胰酶，在室温下消化至细胞变圆（约 1-2 分钟），使用原含血清的基础培养基终止消化，将细胞完全吹打下来。

(2) 将消化下来的细胞使用原始培养基与 Proli™-S001S 按一定比例配制而成的驯化培养基进行重悬，并转移至 125 ml 摇瓶中，接种密度控制在  $0.8-1.0 \times 10^6$  cells/ml。

(3) 置于 37°C，5% CO<sub>2</sub> 条件下，在转速 110-130 rpm 的摇床上培养。

(4) 培养 48 小时后，若细胞密度高于  $2.0 \times 10^6$  cells/ml 且活率高于 90% 时，使用含本产品比例更高的驯化培养基进行细胞的传代。否则仍使用原驯化培养基进行传代。

推荐：驯化培养基含本产品比例依次为：25%，50%，90%，95%，99% 和 100%。

(5) 使用完全的 Proli™-S001S 培养基能稳定传代（细胞比生长速率稳定高于  $0.5 d^{-1}$ ，活率稳定高于 90%），可认为无血清驯化成功。

### **细胞传代**

➤ 已在其他无血清培养基中悬浮培养的 PK15 细胞，可以直接离心，更换为 Proli™-S001S 无血清培养基。

➤ 对于贴壁培养的细胞，建议按本说明“细胞驯化”一节内容对贴壁细胞进行驯化后再使用 Proli™-S001S 无血清培养基进行悬浮传代培养。

推荐：无血清悬浮传代时应控制接种密度在  $0.8-1.0 \times 10^6$  cells/ml，每 48 小时进行传代培养。

### **批式培养**

对于已适应本培养基的悬浮 PK15 细胞，可直接使用本品进行批式培养。