

Driving-M[®] Hybridoma Cell Media

Hyber[™]-B100 杂交瘤细胞无血清培养基使用说明书

描述

Hyber[™]-B100 杂交瘤细胞无血清培养基是上海倍谱基生物科技有限公司针对杂交瘤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基础培养基，其特点为：

- 支持杂交瘤细胞的高密度悬浮培养及蛋白表达。
- 不含动物组分来源、转基因植物来源或带有疯牛病毒来源的原材料。
- 不添加任何抗生素、有机溶剂和防腐剂。
- 含水解物、L-谷氨酰胺、次黄嘌呤和胸腺嘧啶核苷。

配方

Hyber[™]-B100 杂交瘤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 Hyber[™]-B100 杂交瘤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。

有效期

本产品为深黄色液体，密封保质期为六个月，开封后建议两个月内使用。

贴壁细胞悬浮驯化

对于贴壁杂交瘤细胞，可使用本培养基进行无血清悬浮驯化。

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 清洗一遍，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) 将消化下来的细胞以 1000 rpm 离心 5 分钟，弃去上清，使用 Hyber-B100 培养基重悬细胞并转移至 125 ml 摇瓶中，接种密度控制在 $0.5-0.8 \times 10^6$ cells/ml。
- (3) 置于 37°C，5% CO₂ 条件下，在转速 110-130 rpm 的摇床上培养。
- (4) 培养 48 小时后，若细胞密度达到 $1.0-3.0 \times 10^6$ cells/ml 且活率高于 90%，稀释细胞至 $0.5-0.8 \times 10^6$ 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 0.45 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 清洗一遍，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 Hyber-B100 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 $0.5-0.8 \times 10^6$ cells/ml。
- (3) 置于 37°C，5% CO₂ 条件下，在转速 110-130 rpm 的摇床上培养。
- (4) 培养 48 小时后，若细胞密度达到 $1.0-3.0 \times 10^6$ cells/ml 且活率高于 90% 时，使用含 Hyber-B100 无血清培养基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 Hyber-B100 无血清培养基比例依次为：25%，50%，90%，95%，99% 和 100%。

使用完全的 Hyber-B100 培养基能稳定传代（细胞比生长速率稳定高于 0.45 d^{-1} ，活率稳定高于 90%），可认为无血清驯化成功。

悬浮细胞适应

采用稀释传代法逐步替代原有无血清培养基，具体操作如下：每 24 小时或者 48 小时使用 Hyber™-B100 培养基进行稀释传代，传代后活细胞密度控制在 $1.0-2.0 \times 10^6$ cells/ml。当连续传代三次以上，细胞比生长速率稳定且超过 0.6 day^{-1} ，可认为细胞已适应本培养基。

细胞传代及扩培

每 24 小时或者 48 小时使用 Hyber™-B100 培养基进行稀释传代及扩培，传代后活细胞密度控制在 $0.5-1.0 \times 10^6$ cells/ml。

批式培养

建议将杂交瘤细胞在本培养基中进行适应，适应后进行批式培养。选取处于指数生长期的、活性大于 90% 的细胞进行批式培养，接种密度为 $1.0-1.5 \times 10^6$ cells/ml。

流加培养

- (1) 将杂交瘤细胞在本培养基中进行适应，适应后进行流加培养。
- (2) 选取处于指数生长期的、活性大于 90% 的细胞。
- (3) 使用本培养基进行稀释接种，接种密度控制在 $1.0-1.5 \times 10^6$ cells/ml。
- (4) 培养的第一天到第六天每天流加 3% (v/v) 流加培养基。
- (5) 当流加培养周期超过 7 天或细胞活性低于 50% 时建议终止流加培养过程。

建议

- 搭配使用上海倍谙基生物科技有限公司的流加培养基系列效果更佳。