

# Hyber-B100S 杂交瘤细胞无血清培养基

产品型号：Hyber-B100S

## 用户手册

## 目录

产品描述 .....	2
应用范围 .....	2
产品配方 .....	2
产品保存 .....	2
培养基配制 .....	2
细胞冻存 .....	3
细胞复苏 .....	3
细胞传代 .....	3
相关产品 .....	4

## 产品描述

Hyber-B100S 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独立自主开发的无血清培养基,适用于杂交瘤细胞高密度悬浮培养和快速生长,无蛋白、无动物源成分,支持杂交瘤细胞高效表达抗体蛋白。

## 应用范围

本产品可用于科学研究及生物药的大规模生产过程,但不能直接用于人体或医疗用途。

## 产品配方

Hyber-B100S 杂交瘤细胞无血清培养基配方知识产权为上海倍谱基生物科技有限公司所有。

### 产品成分声明

本品包含:

- 碳水化合物、氨基酸、维生素、金属离子等营养组分。
- 7.2 g/L 的葡萄糖,1 g/L 的 P188,8 mM 的谷氨酰胺。

本品不包含:

- 抗生素、HEPES、酚红等组分。
- 动物来源的原材料。

## 产品保存

- 保存于 2-8°C、干燥避光的环境中。
- 本产品极易吸潮,开封后应立即使用,如需继续保存使用,建议将袋中空气尽可能排尽后,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。
- 当本产品严重受潮结块或保存时间超过保质期,建议弃用。

## 培养基配制

根据表 1 所示配方配制 Hyber-B100S 培养基<sup>[1]</sup>。

组分	浓度
Hyber-B100S 培养基干粉	23.91 g/L <sup>[2]</sup>
胰岛素	10 mg/L
碳酸氢钠	2.00 g/L

表 1. Hyber-B100S 培养基配制表

- 1) 取最终培养基配制体积 100%的水至培养基配制容器。配液用水应使用纯化水、注射用水或更高级别的纯水,配制过程中水温应控制在 20-30°C。开启培养基配制容器的混合系统,充分搅拌,搅拌时应避免气泡的产生。
- 2) 按 23.91 g/L 浓度比例准确称取相应质量的 Hyber-B100S 培养基干粉,加入步骤 1) 配制容器中,充分搅拌 20-30 min。
- 3) 准确称取 10 mg/L 的胰岛素,用 10 mM 稀盐酸溶解后,添加至配制容器。稀盐酸推荐使用量 1 mL/L。  
PS: 胰岛素需现用现配。
- 4) 使用 5-10 mol/L 氢氧化钠溶液将 pH 缓慢调节至 6.0-6.5,推荐氢氧化钠添加量为 0.25 g/L。充分搅拌 10-20 min,此时溶液应为澄清透明。
- 5) 准确称取 2.00 g/L 的碳酸氢钠粉末,靠近液面缓慢加入配制容器中,搅拌 10-20 min。
- 6) 若此时培养基溶液的 pH 值不在 7.0-7.4 的范围内,使用稀盐酸或稀碱液将 pH 调节至 7.0-7.4 的范围内。

- 7) 建议使用脉冲泵或压缩空气 (3-15 psi) 经 0.22  $\mu\text{m}$  或 0.2  $\mu\text{m}$  孔径的聚醚砜 (PES) 无菌滤膜对 Hyber-B100S 基础培养基溶液进行无菌过滤。
- 8) 过滤后的培养基液体应立即使用或存放于玻璃瓶、培养基瓶 (PET) 或具有隔氧涂层的一次性储液袋中, 2-8 $^{\circ}\text{C}$  避光保存, 有效期为 6 个月。
- 4) 根据项目具体需求, 将步骤 3) 重悬液保存于适宜规格的冻存管中。
- 5) 使用程序降温仪或冻存盒等方式进行降温冻存处理, 建议降温速率为 0.5-1 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  (-80 $^{\circ}\text{C}$  保存过夜即可)。
- 6) 将细胞转移至液氮罐中保存。

注:

<sup>[1]</sup> 以上配液参数 (如搅拌时间等) 供研发小规模配液参考。大规模生产配液时, 请根据配制容器的搅拌能力设置适当的配液参数, 以便培养基干粉充分溶解。

<sup>[2]</sup> 上述 “g/L” 单位均为体积浓度 (溶质质量/水体积)。

#### 液体培养基理化指标参考标准

指标	单位	参考标准
pH 值		7.0 – 7.4 <sup>[3]</sup>
渗透压	mOsm/kg	280 – 340
浊度	NTU	< 4.00

表 2. 液体培养基理化指标参考标准

注:

<sup>[3]</sup> 本品为二氧化碳缓冲体系, 应严格控制使用过程中液体培养基的 pH 值在参考标准范围内。以下操作会导致出现 pH 值缓慢上升的情况, 如在配液过程中搅拌时间过长或在生物反应器未进行 pH 控制的条件下进行长时间的通气。如 pH 值高于参考标准上限, 存在金属离子析出风险, 进而影响产品表现。

#### 细胞冻存

- 1) 取处于指数生长期中期, 活率大于 90%, 镜检无菌的细胞, 190 $\times$ g 离心 5 min。
- 2) 新鲜培养基以及 DMSO 以 93:7 比例无菌混合, 配制成为冻存培养基。
- 3) 将步骤 1) 离心获得的细胞使用冻存培养基重悬, 重悬后控制活细胞密度为 2.5-3.5 $\times$ 10<sup>7</sup> cells/mL。

#### 细胞复苏

- 1) 将冻存管快速置于 37 $^{\circ}\text{C}$  水浴中, 融化冷冻的细胞, 刚好融化或剩小块冰晶时立马取出至洁净工作台。
- 2) 将细胞悬液转入含有 10-15 mL 预热过的 Hyber-B100S 培养基的离心管中, 190 $\times$ g 离心 5 min, 丢弃上清。
- 3) 使用预热过的 Hyber-B100S 基础培养基重悬细胞, 并转移至 125 mL 摇瓶中, 活细胞密度应控制在 0.8-1.2 $\times$ 10<sup>6</sup> cells/mL。
- 4) 将 125 mL 摇瓶放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ , 5% CO<sub>2</sub>, 饱和湿度, 转速 110-130 rpm (振幅 50 mm 推荐转速 110 rpm, 振幅 10 mm 推荐转速 130 rpm) 的细胞培养摇床中培养。
- 5) 细胞至少传代适应 2 次, 待细胞比生长速率 (或细胞倍增时间) 达到稳定后, 可进行后续操作。

#### 细胞传代

- 1) 取处于指数生长期中期, 活率大于 90%, 镜检无菌的细胞进行传代。
- 2) 按接种密度为 0.8-1.2 $\times$ 10<sup>6</sup> cells/mL 的活细胞密度, 将种子液与已预热的 Hyber-B100S 基础培养基按适当比例混合, 并转移至适宜规格的摇瓶中。
- 3) 将摇瓶放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ , 5% CO<sub>2</sub>, 饱和湿度, 转速 110-130 rpm (振幅 50 mm 推荐转速 110 rpm, 振幅 10 mm 推荐转速 130 rpm) 的细胞培养摇床中培养。
- 4) 每两天按照上述步骤进行传代培养。

## 相关产品

产品名称	产品货号	形态	体积	包装	备注
Hyber-B100 杂交瘤细胞无血清培养基	SY0101402	液体	1L	瓶	
Hyber-B100S 杂交瘤细胞无血清培养基	FG0111201	粉体	100L	袋	无血清、无蛋白、无动物来源。支持杂交瘤细胞的高密度悬浮培养及蛋白表达
	FG0111202	粉体	10L	袋	
	FG0111203	粉体	5L	袋	
Hyber-F100 杂交瘤细胞流加培养基	TP0100802	液体	250mL	瓶	
Hyber-F100S 杂交瘤细胞流加培养基	FG0111301	粉体	20L	袋	
	FG0111302	粉体	2L	袋	



扫码了解杂交瘤系列产品详情

如需了解更多产品和技术信息，就近联系倍谙基。

欢迎拨打 86-21-68582660

或登录 [www.bio-engine.com.cn](http://www.bio-engine.com.cn)

上海倍谙基生物科技有限公司

上海市闵行区绿洲环路 396 弄 3 号楼 4 层

Tel: 021-68582660

[www.bio-engine.com.cn](http://www.bio-engine.com.cn)

