

# LS902 贴壁细胞低血清培养基

产品型号：LS902

## 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

LS902 贴壁细胞低血清培养基是上海倍谙基生物科技有限公司专为贴壁细胞高效培养自主开发的低血清培养基，适用细胞种类广，支持 Vero、293、ST、Marc145、PK15 等多种贴壁细胞生长。

## 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

LS902 贴壁细胞低血清培养基配方知识产权为上海倍谙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。
- 4.5 g/L 的葡萄糖，0.3 g/L 的 P188，4 mM 的谷氨酰胺。
- 酚红

本品不包含：

- 细胞因子、抗生素、HEPES 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 LS902 培养基<sup>[1]</sup>。

组分	浓度
LS902 培养基干粉	15.91 g/L <sup>[2]</sup>
碳酸氢钠	2.13 g/L

表 1. LS902 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 15.91 g/L 浓度比例准确称取相应质量的 LS902 培养基干粉，加入步骤 1) 配制容器中，充分搅拌 20-30 min。
- 3) 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 0.146 g/L。充分搅拌 10-20 min，此时溶液应为澄清透明。
- 4) 准确称取 2.13 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。
- 5) 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。
- 6) 建议使用脉冲泵或压缩空气（3-15 psi）经 0.22 μm 或 0.2 μm 孔径的聚醚砜（PES）无菌滤膜对 LS902 基础培养基溶液进行无菌过滤。

- 7) 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°C 避光保存, 建议 1 个月内使用。
- 8) 使用前添加 3%-5% 体积比的血清, 配成完全培养基。

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	< 2.00

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) 取汇合度 80-90%, 活率大于 90%, 镜检无菌的细胞冻存。
- 2) 完全培养基以及 DMSO 以 93:7 比例无菌混合, 配制成冻存培养基。
- 3) 细胞使用胰酶或温和消化酶消化, 终止消化后, 190 ×g 离心 5 min, 弃去上清。

- 4) 使用 2) 准备好的冻存培养基重悬, 重悬后控制活细胞密度为  $5-6 \times 10^6$  cells/mL。
- 5) 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。
- 6) 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°C/min (-80°C 保存过夜即可)。
- 7) 将细胞转移至液氮罐中保存。

#### 细胞复苏

- 1) 将冻存管快速置于 37°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 mL 预热过的 LS902 培养基的离心管中, 190 ×g 离心 5 min, 丢弃上清。
- 3) 使用 15-20 mL 预热过的 LS902 基础培养基重悬细胞, 并转移至具有透气盖的 T75 方瓶中。
- 4) 将 T75 方瓶放置于 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 饱和湿度的培养箱中培养。
- 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) 取细胞汇合度 80-90%, 镜检无菌的细胞进行传代。
- 2) 弃去培养液, 用 10 mL (以 T75 为例) 常温的 PBS 润洗一遍, 吸弃 PBS。
- 3) 加入 1 mL (以 T75 为例) 胰酶或温和消化酶, 37°C 消化, 至细胞开始变圆脱落。
- 4) 加入预热过的完全培养基接触所有培养表面, 终止消化, 轻轻吹打收集细胞。
- 5) 根据不同细胞生长特性按合适比例接种, 补充完全培养基至 15-20 mL (以 T75 为例)。
- 6) 置于 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 饱和湿度的培养箱中培养。

## 相关产品

产品名称	产品货号	形态	体积	包装	备注
LS902 贴壁细胞低血清培养基	FG0112703	粉体	10L	袋	从 10%血清条件转换无需适应；支持 3-5%低血清作生长液长期传代；
	FG0112702	粉体	100L	袋	支持 1-2%低血清或无血清作维持液用于病毒生产
	FG0112701	粉体	200L	袋	



扫码了解贴壁低血清系列产品详情

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)

