

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
H522KJ	VirusPro® CD BHK 细胞无血清培养基	500mL	12 个月	液体	2 ~ 8 °C, 避光	蓝冰

1. 产品描述

VirusPro® CD BHK 细胞无血清培养基, 是一种无动物源成分、无水解物和无蛋白的无血清培养基, 用于 BHK 细胞的无血清悬浮培养, 能支持细胞快速增殖, 连续传代 25 次以上, 并维持高活率。

适用于口蹄疫、狂犬、伪狂犬等病毒培养。细胞增殖快, 高细胞密度下病毒工艺优化空间大, 支持高病毒滴度。VirusPro® CD BHK 细胞无血清培养基可用于建立 BHK 细胞无血清纯悬浮病毒培养工艺。

本产品使用注射用水 (Water-For-Injection) 配置。

后续描述内容均为针对液体型培养基。

本产品关注点

含有 (+)

- L-谷氨酰胺
- 6.0 g/L D-葡萄糖
- 碳酸氢钠
- 酚红

本产品供科学研究和生产使用, 用于组织和细胞的体外培养。

禁止临床使用。

2. 质量体系

上海源培生物科技股份有限公司的产品是在 cGMP 标准车间中生产的。

上海源培生物科技股份有限公司已取得 ISO9001:2015、ISO13485:2016 质量体系认证。

3. 产品参数

本产品为过滤除菌产品

物理外观: 红色澄清液体

内毒素: ≤ 3 EU/mL

渗透压: 270 ~ 340 mOsm/kg·H₂O

pH 值: 7.0 ~ 7.4

储藏条件: 2 ~ 8 °C

运输条件: 蓝冰

用途: 仅供科研和生产使用

4. 使用指南

使用时请穿着合适的安全手套、实验服和护目镜。

产品不能使用于人体。

细胞直接接触的环境应是无菌的, 直接作用于细胞的试剂必须是无菌的。

请在无菌环境中进行细胞实验, 任何器皿或工具, 移入无菌环境之前, 应在入口处移去外包装膜或者使用酒精擦拭进行消毒。

5. 细胞培养的条件

培养基: VirusPro® CD BHK 细胞无血清培养基

细胞系: BHK 细胞

细胞类型: 悬浮细胞

培养容器和设备: 细胞培养摇瓶和生物反应器

培养条件: 36~37 °C, CO₂ 含量 5~8 % 的湿润空气, 避光, 请确保适当的气体交换。

实验前应对细胞培养仪器进行温度和空气的设置。

以下实验方案, 均以 125 mL 细胞培养摇瓶为例。

6. 复苏

以下实验方案, 均以 125mL 锥形瓶为例。

以一管冻存细胞体积 1.5mL, 活细胞密度 $0.5 \times 10^7 \sim 1 \times 10^7$ 个/mL 为例:

1. 准备无菌的培养容器 (125mL 锥形瓶), 在容器中加入 20mL 预热的完全培养基, 然后立刻开始冻存细胞的解冻;

2. 在 37 °C 水浴中, 迅速 (< 1 分钟) 解冻一管冻存细胞。当最后一丝冰融化时, 迅速从水浴中移出细胞冻存管;

3. 轻轻吸出管中内容物, 并转移到第 1 步预先准备好的锥形瓶中, 采用合适的封闭材质封闭瓶口, 确保适当的气体交换;

4. 将锥形瓶放到摇床中, 设置转速 120~140rpm, 进行细胞培养;

5. 细胞复苏 2~3 天后, 挑选对数生长期的细胞进行传代; 推荐以 6×10^5 个/mL 的活细胞密度进行传代, 传代 3 次后再进行细胞应用。

注意: 由于复苏的细胞非常脆弱, 一般无需离心去除 DMSO。

6. 本实验室保存的 BHK 悬浮细胞生长曲线如下图所示, 供参考。

7. 悬浮细胞传代

推荐在细胞传代 30 次或者持续 3 个月以上时, 复苏新的冻存细胞进行传代。

推荐当细胞满足以下条件时进行传代:

- ① 对数生长期;
- ② 细胞活率大于 90 %

③ 活细胞密度达到 $\sim 2 \times 10^6$ 个/mL。

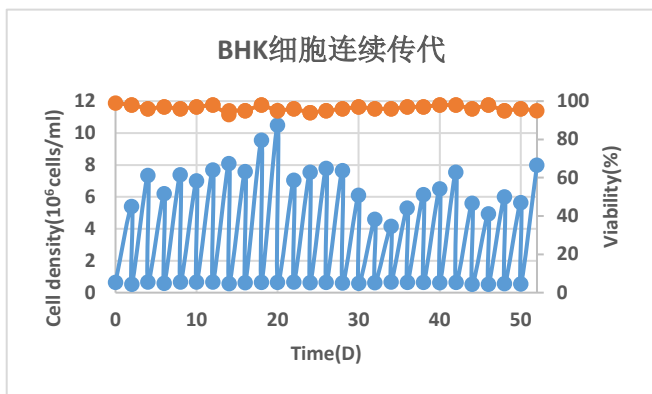
传代步骤:

1. 离心收集细胞 (100×g, 5~10 分钟);
2. 使用少量预热培养基重悬细胞, 进行细胞计数, 确定细胞活率, 计算活细胞密度;
3. 在无菌的培养容器 (125mL 锥形瓶) 中加入合适体积的预热的完全培养基; 然后立即以 $5 \times 10^5 \sim 8 \times 10^5$ 个/mL 的最终活细胞密度, 把细胞接种入锥形瓶中;
4. 将锥形瓶放到摇床中, 设置转速 120~140rpm, 进行细胞培养;
5. 当活细胞密度达到 2×10^6 个/mL 时, 可以进行传代;

注意: 悬浮细胞传代过程最好使用上面推荐的步骤, 也可以不离心, 直接细胞计数然后添加预热的新培养基分瓶培养。但是为减少细胞代谢物和碎片在培养基中的积累, 进而影响细胞活性, 每 1~2 周应该彻底更换一次培养基。

如果距复苏或者上次传代已满 5 天, 活细胞密度仍然不达标要求, 请彻底更换培养基, 或者复苏新的冻存细胞。

6. 本实验室保存的 BHK 悬浮细胞连续传代 25 次曲线如下图所示, 供参考。



8. 细胞驯化

指细胞从其它培养基转换到 VirusPro® CD BHK 细胞无血清培养基中的过程。

推荐当细胞满足一下条件时进行传代:

- ① 对数生长期;
- ② 细胞活率大于 80~90%

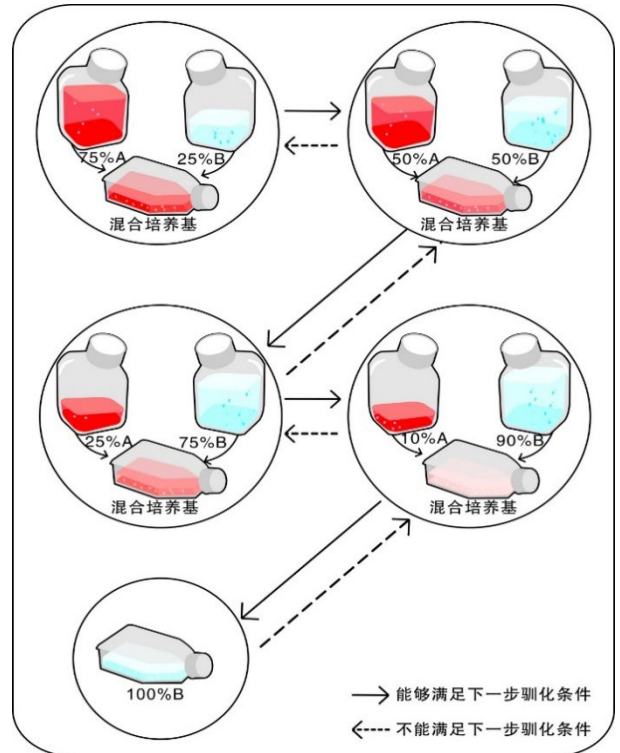
驯化成功的标准: 细胞实现悬浮培养, 每 3~5 天, 细胞活率达 85%, 活细胞密度达 1×10^6 个/ml, 细胞的比生长速率与驯化前一致。

对于需要驯化的细胞, 请直接采用间接驯化法, 即分几步把细胞从待替换的培养基 (一般是含血清培养基, 也可以是其它无血清培养基) 转换到目标培养基 (一般指无血清培养基, SFM, 此处指完全的 VirusPro® CD BHK 细胞无血清培养基) 中。

下述步骤, 待替换的培养基称为 A; 目标培养基称为 B。

与传代操作相同, 参考贴壁细胞传代 1~6 步的操作方法, 每一次传代过程, 使用一种如下图方案配比的混合培养基 (起始 75%A + 25%B), 保证细胞在当前混合比例的培养基中达到下一次驯化标准

时, 再按照方案更换下一比例的培养基, 直到最后使用 100 % B 培养基。



继续监控细胞生长 3~5 代, 直到驯化成功。

注意: 在驯化过程中, 最好不要让细胞过度生长。

推荐在驯化成功前, 做好原始培养物的备份; 间接驯化时, 每次适应新比例的混合培养基之前, 做好当前培养物的备份。

9. 细胞冻存

推荐采用对数生长期且细胞活率大于 90% 的细胞进行冻存。

推荐准备足够的细胞培养物, 保存适量条件培养基。

1. 准备冻存培养基 (45 % 新鲜的完全培养基 + 45 % 条件培养基 + 10 % DMSO), 并在 2~8 °C 避光条件下预冷 (不超过 24 小时);
推荐使用源培生物 CD-Freezer® 化学成分限定细胞冻存液 (S919JV), 该冻存液已含有 7.5% 的 DMSO, 可做细胞冻存培养基。

2. 进行细胞计数, 计算细胞密度, 细胞活率和活细胞密度 (ρ_1); 然后根据待保存的细胞数 (n), 计算需要离心收集的细胞培养物的体积 (V_1), 以及所需的冻存培养基的体积 (V_2)。一般冻存时的活细胞密度 (ρ_2) 为 $0.5 \times 10^7 \sim 1 \times 10^7$ 个/mL。 $V_1 = n / \rho_1, V_2 = n / \rho_2$ 。

3. 离心 (100×g, 5~10 分钟) V_1 体积的培养物收集细胞, 除去上清; 使用 V_2 体积预冷的细胞冻存液将细胞重悬;

4. 根据后续使用需求, 将上述细胞重悬液分装到细胞冻存管中 (一般 1.5mL 每管);

5. 在冻存管上做适当标识 (例如细胞名称、冻存时间及操作者);

6. 可使用程序化降温仪或者人工控制细胞的温度下降（标准的冻存降温速率为-1~-2 °C/min）。当温度达-25°C以下时，温度降速可增至-5~-10°C/min；到-100°C时，则可迅速浸入液氮中；

7. 人工降温的操作方法可以是：将细胞冻存管放入含有异丙醇的冻存盒中，置于-20°C冰箱 2 小时，然后置于-80°C冰箱中过夜，最后单独取出冻存管移入液氮容器内。

注意：细胞冻存 24 小时之后，或者长期冻存（比如半年后），应进行细胞复苏能力检测。

11.相关产品

货号	品名	规格	存储条件	运输条件
B210KJ	Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS)	500 mL	2 ~ 30 °C	常温
S210JV	L-谷氨酰胺溶液, 100X	100 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
S240JV	L-丙氨酰-谷氨酰胺溶液, 100X	100 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
S342JV	Trpzyme™ 细胞消化液	100 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
S919JV	CD-Freezer™ 化学成分限定细胞冻存液	100 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰

* 100X 代表产品的浓度是工作浓度的 100 倍。