

VirusPro®CD BHK 细胞无血清培养基，干粉



源培·培源
BasalMedia

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
H527L7	VirusPro®CD BHK 细胞无血清培养基，干粉	10L	24 个月	干粉	2 ~ 8 °C，避光	蓝冰
H527LJ	VirusPro®CD BHK 细胞无血清培养基，干粉	50L	24 个月	干粉	2 ~ 8 °C，避光	蓝冰

*干粉型培养基在使用前需仔细阅读标签说明和配置说明

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 (+)

- 6.0 g/L D-葡萄糖
- L-谷氨酰胺

不含 (-)

- 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。

严禁用于临床。

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：浅黄色干粉

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。

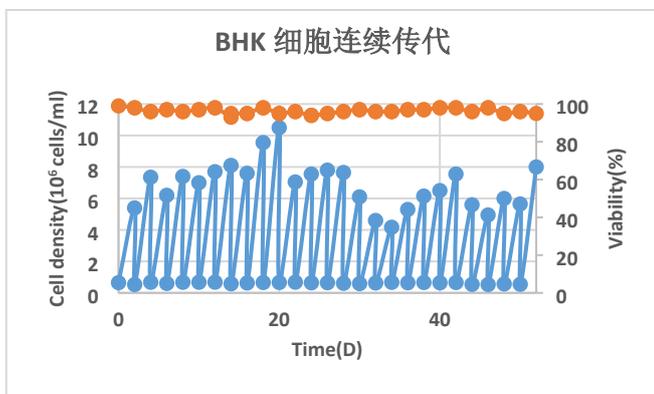
传代步骤：

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%

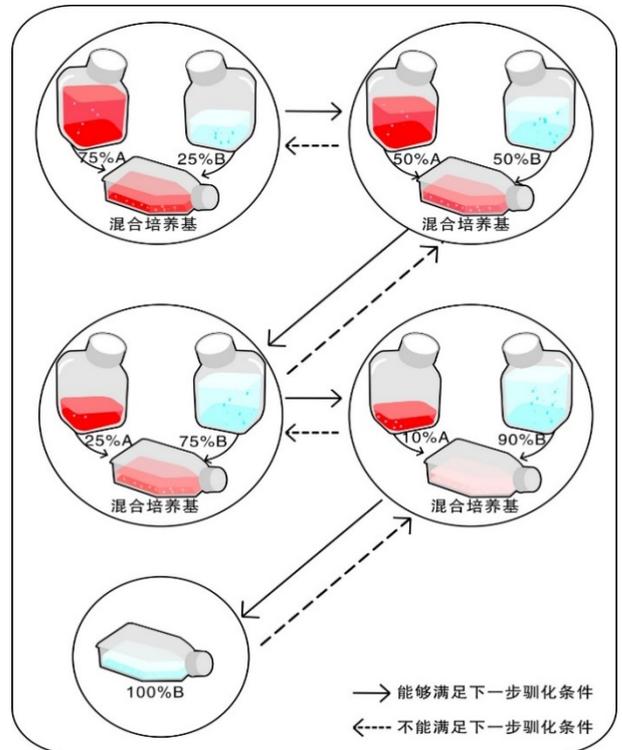
驯化成功的标准：细胞实现悬浮培养，每 3~5 天，细胞活率达 85 %，活细胞密度达 1×10^6 个/ml，细胞的比生长速率与驯化前一致。

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) V1 体积的培养物收集细胞, 除去上清; 使用 V2 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。

10. 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。