

# VirusPro®人二倍体细胞 (HDC) 低血清培养基



源培·培源  
BasalMedia

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
H531KJ	VirusPro®人二倍体细胞 (HDC) 低血清培养基	500mL	12 个月	液体	2 ~ 8 °C	蓝冰

## 1. 产品描述

VirusPro® 人二倍体细胞 (HDC) 低血清培养基, 主要应用于病毒扩增或者疫苗生产。使用前需加入 5% 的胎牛血清或新生牛血清, 以配制成人二倍体细胞 (HDC) 完全培养基。与传统培养基相比, 它具有等同或者更优越的培养能力。人二倍体细胞是常被用来作为病毒性疫苗生产用的人源性细胞, 是病毒性疫苗生产所需的重要生物材料, 同时又是病毒外源因子检测用细胞。

本产品使用注射用水 (Water-For-Injection) 配置。

### 本产品关注点

含有 (+)

- 3.0 g/L D-葡萄糖
- L-谷氨酰胺
- 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

物理外观: 红色澄清液体

pH 值: 6.7~7.3

内毒素:  $\leq 3$  EU/mL

渗透压: 260~320 mOsmol/kg

储藏条件: 2 ~ 8 °C, 避光

运输条件: 蓝冰

用途: 仅供科研和生产使用

## 4. 使用指南

使用时请穿戴合适的安全手套、实验服和护目镜。产品不能用于人体。

细胞直接接触的环境必须是无菌的, 用于细胞培养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, 应在入口处去除外包装并使用酒精擦拭进行消毒。

## 5. 细胞培养的条件

培养基: 人二倍体细胞 (HDC) 完全培养基 (VirusPro® 人二倍体细胞 (HDC) 低血清培养基+5%胎牛血清或新生牛血清)

细胞系: 人二倍体细胞 (HDC)

细胞类型: 贴壁细胞

培养容器和设备: 培养瓶、生物反应器或细胞工厂

培养条件: 36 ~ 37 °C, CO<sub>2</sub> 含量 5~10% 的湿润空气, 避光。

实验前应对细胞培养仪器进行温度和 CO<sub>2</sub> 含量的设置。

## 6. 复苏

以下实验方案, 均以 T75 细胞培养瓶为例。

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 (T75 细胞培养瓶), 在容器中加入 15mL 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, 拧紧培养瓶盖后再反拧 1/4 圈, 确保适当的气体交换;
4. 将培养瓶放入培养箱中培养;
5. 细胞复苏~3 天后, 融合度达到 80~90 % 时, 可以进行细胞传代; 推荐传代 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。

## 7. 细胞传代

1. 当细胞发生 80~90 % 融合时, 可以进行传代。吸出培养瓶中旧培养基和脱落的细胞, 然后用 5mL 不含 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 的 DPBS 漂洗贴壁细胞, 冲洗后吸出 DPBS 漂洗液;
2. 加入 3ml 1X Trpzyme™ 细胞消化液 (S342) (T25 培养瓶中仅需加入 1 mL; Trpzyme™ 细胞消化液是源培生物专门为 VP SFM 无血清培养基适用细胞设计的不含动物源成分的消化液);
3. 室温放置 2~5 分钟, 期间可轻轻敲打瓶壁, 帮助细胞解离; 待细胞从培养瓶壁脱离后, 迅速加入 9mL 人二倍体细胞 (HDC) 完全培养基, 倾斜、轻晃培养瓶, 混匀新加入的液体, 且充分接触培养瓶内壁所有角落;
4. 离心, 去掉上清, 用培养液重悬细胞计数;
5. 以  $1 \sim 5 \times 10^4$  个/mL 的细胞密度接种入新的细胞培养瓶中;
6. 放入培养箱培养, 当细胞发生 80~100% 的融合之后可进行传代, 一般 3~5 天。



## 8. 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)；
1. 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 ( $\rho_1$ )；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 ( $\rho_2$ ) 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  $-1 \sim -2$  °C/min)。当温度达  $-25$  °C 以下时，温度降速可增至  $-5 \sim -10$  °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。

## 9. 相关产品

货号	品名	规格	存储条件	运输条件
S210JV	L-谷氨酰胺溶液, 100X *	100 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
S240JV	L-丙氨酸-谷氨酰胺溶液, 100X *	100 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
S450J7	胰岛素-转铁蛋白-硒添加剂 (ITS-G), 100X *	10 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
S451J7	胰岛素-转铁蛋白-硒-丙酮酸钠添加剂 (ITS-A), 100X *	10 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
S452J7	胰岛素-转铁蛋白-硒-乙醇胺添加剂 (ITS-X), 100X *	10 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
FBS500	Moregate 胎牛血清, 澳洲原装进口	500 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
S660JY	胎牛血清	10 X 50 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
B210KJ	Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS), 不含钙、镁离子和酚红	500 mL	2 ~ 30 °C	常温
B310KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS), pH7.2	500 mL	2 ~ 30 °C	常温
B320KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS), pH7.4	500 mL	2 ~ 30 °C	常温
S310JV	胰酶 EDTA 溶液, 0.25%	100 mL	-30 ~ -5 °C	干冰
S342JV	Trpzyme® 重组胰蛋白酶消化液, 不含酚红	100mL	-30 ~ -5 °C	干冰
S919JV	CD-Freezer® 化学成分限定细胞冻存液	100mL	2 ~ 8 °C	蓝冰

\* 100X 代表产品的浓度是工作浓度的 100 倍