

# **Pesche-CD100S Vero 细胞 CD 培养基**

**产品型号：Pesche-CD100S**

## **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

## 产品描述

Pesche-CD100S Vero 细胞 CD 培养基是专为病毒生产设计的无血清培养基，无需添加血清即可支持 Vero 贴壁细胞高密度增殖、连续传代培养以及多种病毒的生产。

## 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

### 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。
- 3.5 g/L 的葡萄糖，0.3 g/L 的 P188
- 酚红、HEPES、核苷。

本品不包含：

- 水解物、抗生素等组分。
- 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 Pesche-CD100S 培养基<sup>[1]</sup>。

组分	浓度
Pesche-CD100S 培养基干粉	15.00 g/L <sup>[2]</sup>
L-谷氨酰胺	0.584 g/L
碳酸氢钠	2.20 g/L

表 1. Pesche-CD100S 培养基配制表

- 1) 取最终培养基配制体积 90% 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 15.00 g/L 浓度比例准确称取相应质量的 Pesche-CD100S 培养基干粉，加入步骤 1) 配制容器中。
- 3) 准确称取 0.584 g/L 的 L-谷氨酰胺粉末，加入配制容器中，充分搅拌 40 min 至完全澄清透明。
- 4) 准确称取 2.20 g/L 的碳酸氢钠粉末，靠近液面缓慢加入配制容器中，搅拌 3-5 min 溶解。
- 5) 加水至总量的 100%，搅拌均匀，用稀盐酸或稀碱液将 pH 调节至 7.1-7.3 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 Pesche-CD100S 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，有效期为 1 个月。

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		7.1 – 7.3 <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) 取汇合度 80-90%，活率大于 90%，镜检无菌的细胞冻存。保留条件培养基（培养上清）
- 2) 配制冻存培养基，配比为 92.5% Pesche-CD100S 培养基（新鲜培养基与条件培养基 1:1）+7.5%DMSO。
- 3) 细胞使用温和消化酶（若用普通胰酶需用胰酶抑制剂终止消化并离心去除）消化，终止消化后，100×g 离心 5 min，弃去上清。
- 4) 使用 2)准备好的冻存培养基重悬细胞。重悬后控制活细胞密度为  $1-5 \times 10^6$  cells/mL。
- 5) 根据项目具体需求，将步骤 4) 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  $0.5-1^\circ\text{C}/\text{min}$  ( $-80^\circ\text{C}$  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  $37^\circ\text{C}$  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 Pesche-CD100S 培养基的离心管中， $100 \times g$  离心 5 min，丢弃上清。
- 3) 使用 15-20 mL 预热过的 Pesche-CD100S 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  $37^\circ\text{C}$ ，5%  $\text{CO}_2$ ，饱和湿度的培养箱中培养。

### 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 润洗两遍，吸弃 PBS。
- 3) 加入 1 mL（以 T75 为例）温和消化酶（若用普通胰酶需用胰酶抑制剂终止消化并离心去除）， $37^\circ\text{C}$  消化 3-5 分钟至细胞开始变圆脱落。
- 4) 加入预热过的 Pesche-CD100S 培养基接触所有培养表面，终止消化，轻轻吹打收集细胞。
- 5) 取样计数，以  $1-5 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> 接种，补充 Pesche-CD100S 培养基至 15-20 mL（以 T75 为例）。
- 6) 置于  $37^\circ\text{C}$ ，5%  $\text{CO}_2$ ，饱和湿度的培养箱培养。一般 2-5 天达到 80-100% 汇合度。

### 相关产品

产品名称	产品货号	形态	体积	包装	备注
Pesche-CD100S Vero 细胞 CD 培养基	FG0117501	粉体	200L	袋	无血清、超低蛋白、无动物来源、化学成分明确，支持新冠疫苗、狂犬疫苗、轮状疫苗等生产。
	FG0117502	粉体	100L	袋	
	FG0117503	粉体	10L	瓶	
Pesche-CD100 Vero 细胞 CD 培养基	FG0117504	液体	1L	瓶	

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)

