



# EAM03 贴壁培养基

## 一、产品概述

EAM03是哺乳动物传代细胞系通用型贴壁培养基，广泛应用于动物疫苗贴壁生产工艺。

## 二、订购信息

表 1 订购信息

产品名称	液体		固体	
	货号	规格	货号	规格
EAM03 贴壁培养基	SH10103-01	1L	SH3022	1L/5L/10L/50L/100L

## 三、产品参数

表2 EAM03培养基产品参数

理化特性	外观	澄清淡红色液体 均匀细致粉末
	pH	7.0-7.4
	渗透压	280-320mOsm/kg
	内毒素	≤2 EU/mL
	是否含有谷氨酰胺	是
细胞相关	适用细胞	各种贴壁细胞
	是否添加血清	是
保质期	保质期限（固体）	18个月
	保质期限（液体）	12个月

## 四、使用范围

仅用于科研及工业生产，不能用于人体。

## 五、配制过程

EAM03培养基含有一个组分：

表3 EAM03配方量

组分	配方量
EAM03	12.782g/L

EAM03配制说明：

- 5.1. 确定配制总体积，选择合适容器进行配制，容器体积大于总体积；
- 5.2. 按照配方量在容器中加入培养基粉末，再加入约配制总体积80%的超纯水或注射用水，建议机械搅拌至少90min至粉末全部溶解；
- 5.3. 本产品不含有 $\text{NaHCO}_3$ ，跟据实际生产需求适量添加（建议添加量0.5g/L~2g/L），充分溶解后测定培养基pH，若测定值在正常范围内则无需调整，若测定值超出正常范围，则用1M的HCL或5M的NaOH调节至正常范围7.0-7.4；
- 5.4. 使用注射用水或超纯水定容至目标体积；
- 5.5. 无菌过滤。

## 六、储存条件

2-8°C低温避光保存。

## 七、培养基适应

- 7.1. 直接适应：最初培养阶段，细胞按初始密度1/3传代，直接将培养基更换为EAM03，进行细胞培养。待细胞培养2-3代，且细胞生长稳定后进行后续实验。贴壁细胞稳定生长时按照1/3传代，72小时显微镜下观察细胞生长良好，贴壁单层且汇合度在80%左右。
- 7.2. 间接适应：EAM03与细胞原培养基1：1比例混合，培养细胞，连续传代2-3代，细胞稳定生长后可将培养基更换为EAM03，连续传代2-3代，细胞生长稳定后进行后续实验。贴壁细胞稳定生长时按照1/3传代，72小时显微镜下观察细胞生长良

好，贴壁单层且汇合度在80%左右。

### 7.3. 注意事项:

7.3.1. 根据细胞具体情况选择进行培养基直接适应或者间接适应。

7.3.2. 细胞驯化初期，若出现细胞汇合度较低、细胞漂浮等其他不稳定状态，根据当天细胞生长情况选择传代方式（换液传代、离心传代）

7.3.3. 换液传代：若细胞汇合度 $\geq 30\%$ ，弃去旧细胞悬液，加入对应新鲜培养基和血清。

7.3.4. 离心传代：若细胞汇合度 $< 30\%$ ，收集全部细胞悬液，进行800rpm离心5min，去除上清，用新鲜培养基重悬细胞，补加对应新鲜培养基和血清。

7.4. 细胞恢复正常状态传代：贴壁细胞按照1/3传代，72h显微镜下观察细胞生长良好，贴壁单层且汇合度在80%左右。

## 八、贴壁细胞冻存

8.1. 待细胞恢复至正常状态后，扩大细胞培养体积准备冻存建库。尽量多建细胞库，保证备份充足（冻存管建议品牌：Corning，货号：430488）。

8.2. 选择处于对数生长期、活率大于90%细胞进行冻存，冻存细胞推荐1个T75冻存3~4支。

8.3. 准备冻存盒：向程序降温盒注入适量异丙醇，置于4°C冰箱预冷。

8.4. 配制细胞冻存液：冻存液=80%培养培养基+10%FBS(建议使用进口胎牛血清)+10%DMSO，冻存液配好后置于4°C冰箱预冷（冻存液配制时，先加培养基再加血清或DMSO，防止DMSO浓度过高导致血清有效成分变性）。

8.5. 取细胞悬液，800rpm离心5min，弃去上清，用适量细胞冻存液重悬细胞，调整细胞密度至目标值。

8.6. 快速分装细胞液至冻存管中。

8.7. 将冻存管放入程序降温盒中，放于-80°C冰箱，24h后转至液氮罐中储存。一段时间后复苏检测。

## 九、贴壁细胞复苏

9.1. 预热培养基：取15mL对应培养基置于方瓶中，放入37°C二氧化碳培养箱中预热30min以上（目的平衡培养基pH值），保证预热充分。

- 9.2. 将冻存管从液氮保存罐或-80℃冰箱中取出，迅速转移至37℃水浴中，快速摇晃，直至完全融化。
- 9.3. 取预热好的培养基5mL于无菌离心管中，并将溶化后的细胞悬液移入此离心管中。800rpm离心5min（目的除去冻存液中DMSO）。
- 9.4. 离心后去除上清，用10mL预热好的培养基（目的保证较高细胞复苏密度）重悬细胞，移回相应方瓶，加入5%-8%胎牛血清，放于培养箱中培养。

BM20220519