



杂交瘤细胞培养基-Doma701

一、产品概述

Doma701是一款杂交瘤细胞通用型全悬浮培养基，广泛应用于重组蛋白表达平台。

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
杂交瘤细胞培养基-Doma701	SH10802-01	500mL/1L	SH2001	1L/5L/10L/50L/100L

三、产品参数

表2 Doma701培养基产品参数

理化特性	外观	澄清浅红色液体 均匀细致粉末
	pH	7.0-7.4
	渗透压	300-340mOsm/kg
	内毒素	≤10 EU/mL
细胞相关	适用细胞	杂交瘤
	倍增时间	32h
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

Doma701培养基含有两个组分：

表3 Doma701配方量

<u>组分</u>	<u>配方量</u>
<u>Part1</u>	<u>29.01 g/L</u>
<u>Part2</u>	<u>0.06 g/L</u>

Doma701配制说明：

- 5.1. 确定配制总体积，选择两个容器进行配制，其中容器1体积大于总体积，容器2体积大于总体积的0.2%；
- 5.2. 按照配方量在容器1中加入Part1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30min；
- 5.3. 按照配方量在容器2中加入Part2培养基粉末，再加入约配制总体积0.2%的超纯水或注射用水，70°C水浴加热30min至粉末全部溶解；
- 5.4. 将溶解后的容器2中液体移入容器1中混合；
- 5.5. 建议机械搅拌至少60min至粉末全部溶解；
- 5.6. 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；
- 5.7. 使用注射用水或超纯水调整总体积至目标值；
- 5.8. 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 0.75×10^6 cells/mL 接种，直接将培养基更换为Doma701，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。

杂交瘤细胞稳定生长时按照 0.75×10^6 cells/mL 密度接种，Doma701 培养基培养 48 小时密度 $2-4 \times 10^6$ cells/mL，细胞活率 $>90\%$ 。7.2. 间接适应：Doma701 与细胞原培养基 1:1 比例混合，培养细胞，连续传代 2-3 代，细胞稳生长后可将培养基更换为 Doma701，连续传代 2-3 代，细胞生长稳定后进行后续实验。杂交瘤细胞稳定生长时按照 0.75×10^6 cells/mL 密度接种，Doma701 培养基培养 48 小时密度 $2-4 \times 10^6$ cells/mL，细胞活率 $>90\%$ 。

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. 为保证细胞稳定生长，细胞扩增比例 $\geq 1:7$ 时，进行稀释传代，细胞扩增比例 $< 1:7$ 时，进行离心传代。

7.3.3. 稀释传代：根据细胞密度计算传代时所需细胞悬液，去除多余细胞悬液并补充新鲜培养培养基至培养体积。

7.3.4. 离心传代：根据细胞密度计算传代时所需细胞悬液，进行 800rpm 离心 5min，去除上清，用新培养基重悬细胞。

7.4. 细胞恢复正常状态传代：

表 4 正常细胞生长数据

细胞名称	培养基	接种密度 (cells/mL)	第2天细胞密度 [1] (cells/mL)	细胞活率 (%)	细胞平均 倍增时间 (h)
杂交瘤	Doma701	0.75×10^6	$2-4 \times 10^6$	$\geq 90\%$	32

注释：

[1] 不同计数方式可能存在差异。

八、杂交瘤悬浮细胞冻存

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 $\geq 90\%$ 细胞进行冻存，冻存细胞密度： $15-20 \times 10^6$ cells/mL，推荐 20×10^6 cells/mL。
- 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=70%培养培养基+20%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、杂交瘤悬浮细胞复苏

- 9.1. 预热培养基：取25mL对应培养基置于摇瓶中，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°C 冰箱中取出，迅速转移至 37°C 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20mL预热好的培养基（目的保证较高细胞复苏密度）重悬细胞，移回相应摇瓶，放于培养箱中悬浮培养。

BM20220519