



BESTCHROM

博 格 隆

Bestdex Cell 1 细胞培养用微载体 使用说明书



目 录

1、产品简介	1
2、技术参数	1
3、使用方法	2
4、灭菌	3
5、储存	3
6、销毁及回收	4
7、订货信息	4

1、产品简介

微载体培养技术是一种能够实现基架依赖细胞高产培养的技术。Bestdex Cell 1专为培养各种动物细胞开发，培养量从几毫升到几千升。在简单的悬浮培养系统中使用Bestdex Cell 1可提供每毫升数百万个细胞的产量。它只需更改微载体浓度即可更改可用表面积。应用范围包括大规模细胞、病毒和重组细胞产物（例如干扰素，酶，核酸，激素）的生产，细胞粘附，分化和细胞功能的研究等。该产品仅可用于研究，不能用于临床和体外诊断。

Bestdex Cell 1是将二乙基氨基乙基基团偶联到Bestdex G-50上形成。在细胞培养过程中微载体提供生物惰性基架，细胞高效粘附在微载体表面，且Bestdex Cell 1具有与水相近的密度，有利于细胞的均匀悬浮。

Bestdex Cell 1适用于大多数已建立的细胞系。同时也可用于原代细胞和正常二倍体细胞株的培养。

该产品具有以下特点：

- 颗粒大小和密度的优化，为各种细胞提供高产生长条件；
- 微载体溶胀后呈透明状，便于对附着的细胞进行显微镜检测；
- 微载体基架具有生物惰性，可为细胞的搅拌培养提供坚固但非刚性的基质。

2、技术参数

基架	葡聚糖
功能基团	二乙基氨基乙基
颗粒大小 ⁺	150~250 μ m
Cl ⁻ 离子载量	1.40-1.60mmol Cl ⁻ /g介质
沉积速度	~ 90cm/h
密度	~1.03g/mL
每克干粉得到的溶胀胶体积 ⁺⁺	20~25mL
比表面积	~4400cm ² /g干粉
每克干粉微球数	~4.3 \times 10 ⁶

⁺干粉颗粒用 0.15M NaCl 溶胀后的湿胶颗粒大小。在该范围内的颗粒体积占总体积的 80%以上。

⁺⁺不同溶液中颗粒大小会有差异，本数据为在 0.15M NaCl 中溶胀结果

3、使用方法

3.1 微载体的准备

注：Bestdex Cell 1 以干粉形式供货，在使用前需要溶胀。

- 室温下，将微载体在不含有 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的 PBS 溶液（用量为 50~100 mL PBS/g 微载体）中至少溶胀 3 h。
- 缓慢倒出溶胀用 PBS，将微载体用新鲜的不含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的 PBS 溶液（相对于微载体用量为 30~50 mL/g）清洗 2~3 分钟。
- 缓慢倒出上清液，重新倒入新鲜的不含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的 PBS 溶液（相对于微载体用量为 30~50 mL/g）
- 在 115℃或 121℃，pH7.4 条件下，0.1MPa 灭菌 15~30min。

注：微载体非常稳定，可重复灭菌 5 次以上不影响性能，灭菌时所有溶液 pH 应为 7.4。最高可耐受 130℃高温灭菌。

- 使用前，使微载体沉降并去除上清液。
- 用恢复至室温的培养基（相对于微载体用量为 20~50 mL/g）快速冲洗微载体。
- 待微载体沉降后，倒出上清液，将其转移到培养容器中。

3.2 培养容器

- 微载体培养可以在通用的细胞培养容器中进行。具有缓慢搅拌功能、保证微载体能够均匀悬浮的、不产生高剪切力的细胞培养容器最佳。搅拌器不能在搅拌过程中碰撞到容器的内表面，搅拌轴承浸没在培养基中的容器也不合适，因为微载体可能在搅拌轴承中被磨碎。

注：玻璃培养容器在使用前应进行硅化处理。

3.3 培养步骤

- 微载体的具体培养步骤依据培养的细胞类型和培养容器决定。培养过程中微载体含量为 1~5 g/L，细胞接种量为 $5 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$ 个/mL，转速根据罐体结构一般为 20~60 rpm，需要将微载体悬浮起来。
- 可参考以下步骤进行微载体培养（具体体积和接种量可根据实际情况成比例调整，对于不同种类的细胞培养，需对以下步骤进行修改。）
 - 在 30 mL 培养基中加入 0.3 g 微载体（最终培养量为 100 mL）。
 - 细胞接种量为 10^7 ，缓慢混合均匀，37℃下培养。



- 待细胞附着于微载体表面后，开始连续搅拌。
注：细胞附着所需的时间取决于不同类型细胞的附着效率。如果所需时间过长，可以间歇搅拌培养物（如每 30 分钟搅拌 2 分钟），确保细胞和微载体分布均匀。
- 待微载体分布均匀后，增加培养量为 50 mL。
- 1~2 天后，增加培养量至 100 mL，3~5 天后可能需要部分更换培养基。

3.4 检测细胞生长

- 从培养物中取出代表性的微载体样品，直接进行相差分析或用苏木精染色后进行显微镜检查。确定细胞数的最合适方法是使用标准核计数法。

3.5 收集细胞

- 可以使用多种方法从微载体表面剥离细胞。最常见的方法是使用蛋白水解酶，如胰蛋白酶标准处理法进行处理。
- 将微载体沉降并去除培养基。
- 将微载体在含有 0.02% (w/v) EDTA 的不含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的 PBS 溶液（相对于微载体用量为 50~100 mL/g）中洗涤 5 分钟，溶液 pH 为 7.6。
注：在高血清浓度下，需要更多次的洗涤过程。
- 去除 EDTA-PBS 后，加入胰蛋白酶或胶原蛋白酶的 EDTA 溶液（相对于微载体用量约为 30~50 mL/g），混合均匀后，37°C 培养 15 分钟后，加入含血清的培养基（相对于微载体用量约为 20~30 mL/g）终止反应。
注：在这一阶段，微载体中残留的细胞可通过轻微搅拌去除。
- 分离的细胞可以在重力作用下通过沉降或通过 100 μm 细胞过滤器分离出来，在逐级放大生产过程中可用于后续微载体培养接种。
注：将上述细胞用作后续微载体培养的接种物时，需保证细胞的活力，膜的完整性和高附着效率，因此，洗涤和获取的速度非常重要。

4、灭菌

Bestdex Cell 1 以干粉形式供货，使用前必须进行溶胀和灭菌，微载体非常稳定，可以用 115°C 或 121°C，15~30min 对微载体高压灭菌，灭菌时所有溶液 pH 应为 7.4。最高可耐受 130°C 高温灭菌。

5、储存

溶胀并灭菌后的微载体应在 2~8°C 下用 PBS 溶液无菌储存。

6、销毁及回收

由于 Bestdex Cell 1 在自然界很难降解，为了保护环境建议采用焚烧处理。

7、订货信息

产品名称	货号	包装
Bestdex Cell 1	AI132305	25g
	AI132307	100g
	AI132311	500g
	AI132312	1kg
	AI132313	5kg
	AI132316	10kg
	AI132314	25kg