中科森辉微球技术(苏州)有限公司
苏州工业园区金鸡湖大道 99 号纳米城 NW-02 幢 #713，邮编: 215123
电话: 0512-8686 7755；传真：0512-86867758
www.senhuimicrosphere.com

细胞培养微载体（SHMC-1225）产品说明书

中科森辉微球技术（苏州）有限公司

中科森辉微球技术(苏州)有限公司
苏州工业园区金鸡湖大道 99 号纳米城 NW-02 幢 #713, 邮编: 215123
电话: 0512-8686 7755；传真：0512-86867758
www.senhuimicrosphere.com

细胞培养微载体（SHMC-1225）产品说明书

1. 产品简介

大规模的细胞培养技术已成为临床和医学上重要生物制品制备的一种有效方法，也是生物、医学研究中获取所需生物大分子的主要手段之一，已发展成为生物医药高技术产业的重要组成部分。通过高密度细胞培养可生产多种有应用价值的生物制品，如疫苗、细胞因子、免疫调节剂、单克隆抗体等。微载体培养是目前最为有效的一种动物细胞大规模培养技术，是一种用于高产量培养贴壁细胞的实用技术，其兼具悬浮培养和贴壁培养的优点，易于放大和实现工业化生产。微载体培养已广泛用于多种类型细胞的培养，如 Vero 细胞、成肌细胞、CHO 细胞等。

SHMC-1225 微载体是以自主专利技术开发的一种以交联的葡甘聚糖为基质的新型微载体，基质材料具有良好的生物相容性和理化稳定性，是一种应用简便的通用型细胞培养微载体，可进行多种类型细胞的培养。它为动物细胞的生长提供了适宜的表面和有利于细胞贴附及增殖的微环境，细胞密度可高达每毫升数百万的水平，为动物细胞培养提供了新的选择。

2. 产品特性

SHMC-1225 微载体是以交联的葡甘聚糖为母体的珠状微载体，珠体带有分布均匀的正电荷功能基，基础技术参数如下表 1 所示。

表 1 SHMC-1225 微载体技术参数

参数	指标
外观	球形、表面光滑
骨架	交联葡甘聚糖
湿真密度（g/mL）	1.03-1.05
平均粒径（μm）	200（150-250）
细胞培养密度（cells/ml）	$2*10^5$
全交容量（mmol/g）	2.0-2.9
储存条件	4-30℃（20%乙醇）

***单位体积以微载体静置沉降体积为准。**

适度的交联使微载体具有稳定的骨架结构，在中性条件下可进行多次高温灭菌处理。在室温、20%乙醇中，可保存 2 年以上；微载体有适合的电荷密度，且内外表面分布均匀，有利于细胞的贴附、伸展及增长；珠体的湿真密度有利于均匀地悬浮于发酵液中，适宜各种发酵罐进行悬浮细胞培养，细胞密度每毫升可高达

数百万个。

产品具有完整的质量保证体系，各批产品均经过严格的理化性能检测及生物学实验，以确保产品性能符合企业标准。随产品提供质检报告。

3. 使用方法及注意事项

3.1 容器进行硅烷化

实验所用的玻璃容器需用甲苯溶液（含 1%二甲基二氯硅烷）硅化，以防止其吸附 SHMC-1225 微载体。具体方法为：在容器中加入适量硅化液浸润 10 分钟左右，然后倒出硅化液，将容器放置在通风厨内自然风干，重复两次，然后用双蒸水冲洗三次，高压蒸汽灭菌备用。

3.2 微载体预处理

1）室温下，每毫升 SHMC-1225 微载体（湿态，沉降体积）用 2-4 mL 磷酸盐缓冲液（PBS，不含钙、镁离子）洗涤两次；

2）每毫升微载体湿球中加入 1-2 mL PBS 缓冲液（不含钙、镁离子），121℃灭菌 30 min；

3）接种前一天倒去微载体中的 PBS 溶液（超净台中操作），用约 2 倍体积的培养液浸泡微载体，待微载体沉降后，倒出上清培养液。再加入 2 倍体积的培养液，混匀，重复一次，置于 37℃下温育 3 h，使微载体充分处在培养液环境中。使用前再更换为新的培养液，并使微载体与培养液的体积比处于 1：2 左右的水平。

3.3 微载体培养

培养液中 SHMC-1225 微载体常用的浓度范围为 20-100 mL/L，细胞接种密度为 5×10^4～2×10^5 cells/mL；搅拌速度为 20-60 rpm。以 100 mL 培养体系为例，具体的培养操作如下：

1）将 6 mL（沉降体积） SHMC-1225 微载体加入到悬浮搅拌瓶中，起始培养体积为 30 mL；

2）接种 1.0×10^7 个细胞，在 37℃连续低速搅拌。如果细胞贴附较慢，可以间歇搅拌 2-6 h（每隔 30 min 搅拌 2 min）以确保细胞能够均匀分布在微载体上；

3）待绝大多数细胞贴附后，逐步补充新鲜培养液至工作体积 100 mL；

4）以能够防止微载体沉降的最低搅拌速度连续搅拌培养；

5）培养 3-5 天后进行部分换液。

备注：上述操作流程和参数仅供参考，可根据具体细胞系和培养工艺进行调整。

3.4 收获细胞

1）细胞在微载体上 80%-90 %汇合时可收获细胞，首先停止搅拌，使微载体沉降；

2）移除上清培养液，用无钙、镁离子的 0.02 % (w/v) EDTA-PBS 溶液（pH 7.6）洗涤 1-2 次（20-40 mL/mL

SHMC-1225）；

3）移除 EDTA-PBS 溶液，每毫升微载体中加入 10-20 mL 的细胞消化液（含 0.1 %胰酶和 0.02% EDTA 的 PBS 溶液）消化细胞，在 37℃下温育约 15 min（间歇性搅拌）；

4）加入含血清的培养液（每毫升微载体加入 8-12 mL）终止胰酶的消化作用，如采用无血清培养则加入胰酶抑制剂终止胰酶作用；

5）采用 100 μm 的无菌尼龙/不锈钢滤膜截留 SHMC-1225 微载体，收集细胞。

3.5 结晶紫染色法

培养过程中所采集的样品可用结晶紫染色法计数细胞核来确定细胞生长量，具体操作如下：

1）取 1 mL 均匀悬浮的样品，离心后弃去上清，用 PBS 洗涤 1~2 次；

2）用 1 mL 含有 0.1 %（w/v）结晶紫的 0.1 M 柠檬酸溶液重悬微载体，混合均匀；

3）密封，在 37℃培育至少 1 h 后取出，用吸管吹打，释放细胞核（4 ℃条件下可放置一周）；

4）样品混匀后用血球计数板计数被染成紫色的细胞核。

3.6 静态培养评价

1）使用方形玻璃培养瓶进行评价，备好所用器皿，超净台内操作。

2）消化细胞，细胞计数，计算每皿应加细胞量（一般采用 2.0×10^5 cells/ml 的密度接种），以培养液-微载体-细胞的顺序加入到培养瓶中，总体积为 8 ml，微载体的体积为培养液体积的 8%（0.64 ml）；

3）换液：培养 72 小时后，每 24 小时换一次液，静置培养瓶，待微载体沉降后，取出 4 ml 培养液，再加入 4 ml 新的培养液；

4）细胞计数方法同上。

4. 应用实例

1）微载体培养 Vero 细胞条件

微载体：SHMC-1225 微载体

细胞样品：Vero 细胞

细胞培养液：50% DMEM-High glucose（250 mL）+ 50% M199 (250 mL)+ 5% FBS (25 mL) + 1% 双抗 (5 mL) +1% 谷氨酰胺（5 mL）

消化液：0.25% 胰蛋白酶-EDTA

细胞接种密度：2×10^5 个/mL

微载体加入量：80 ml/L

培养条件：37 ℃，5% CO_2

培养结果：

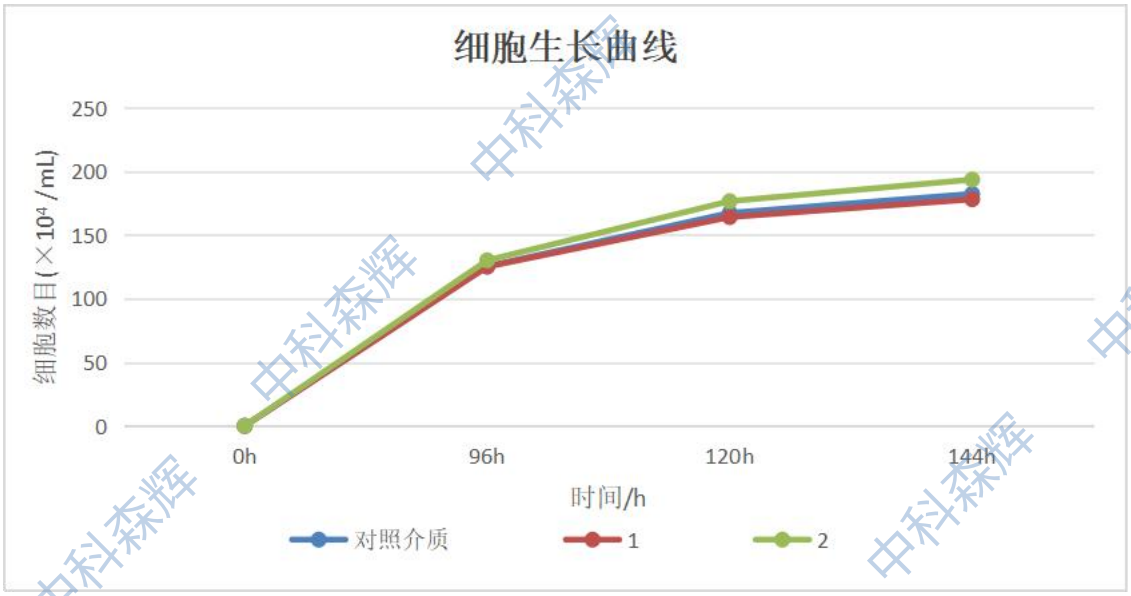
2）细胞计数结果

表 1 细胞数目(×10^4/mL)

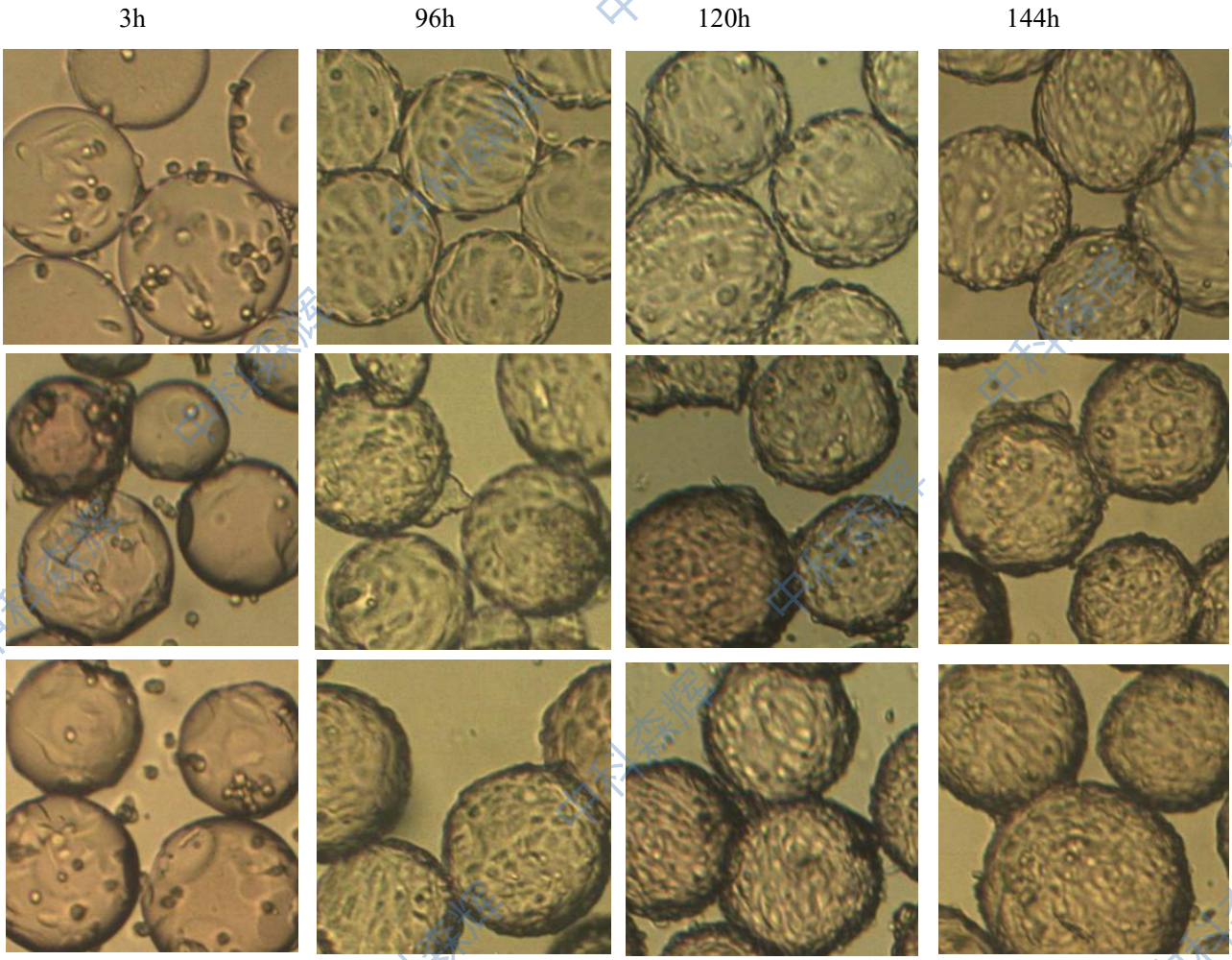
单位：×10^4/mL

	0h	96h	120h	144h
对照介质	0	125.50	167.50	182.50
1	0	125.25	164.25	178.25
2	0	130.25	176.75	193.75

3）细胞生长曲线



4）细胞培养图片



5）评价结果

SHMC-1225 微载体能够支持 VERO 细胞良好的生长，细胞培养效果与对照介质相当。

5. 应用实例 2

1）微载体培养 Vero 细胞条件

微载体：SHMC-1225 微载体

细胞样品：Vero 细胞

细胞培养液：DMEM-High glucose + 10% FBS + 1% 双抗

消化液：0.25% 胰蛋白酶-EDTA

细胞接种密度：1×10^5 个/mL

微载体加入量：40 ml/L

培养条件：37 ℃，5% CO_2

培养结果：

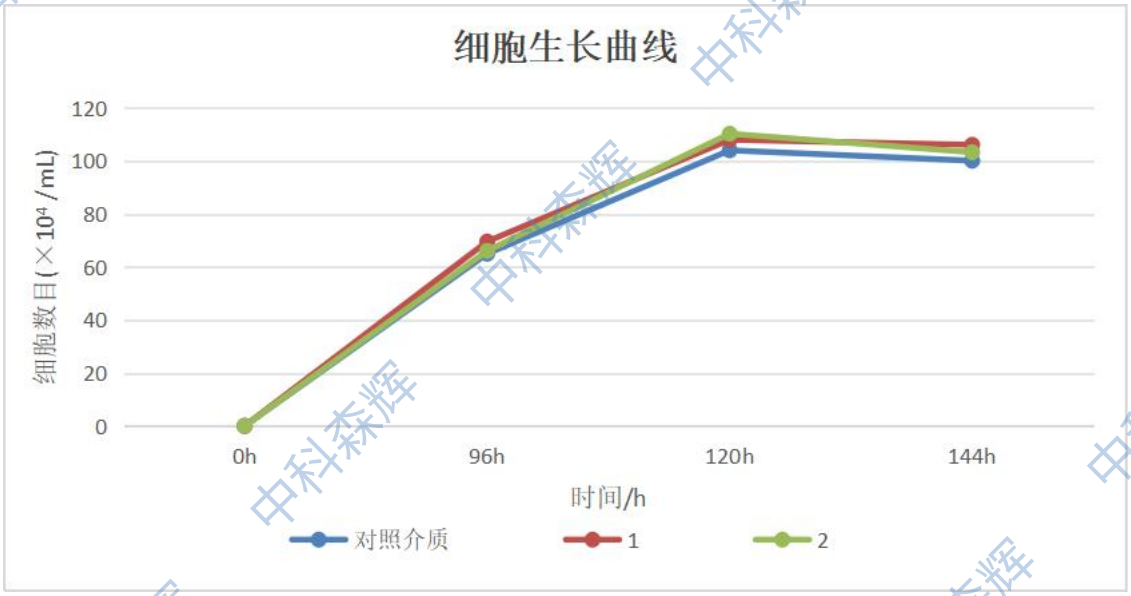
2）细胞计数结果

表 1 细胞数目(×10^4/mL)

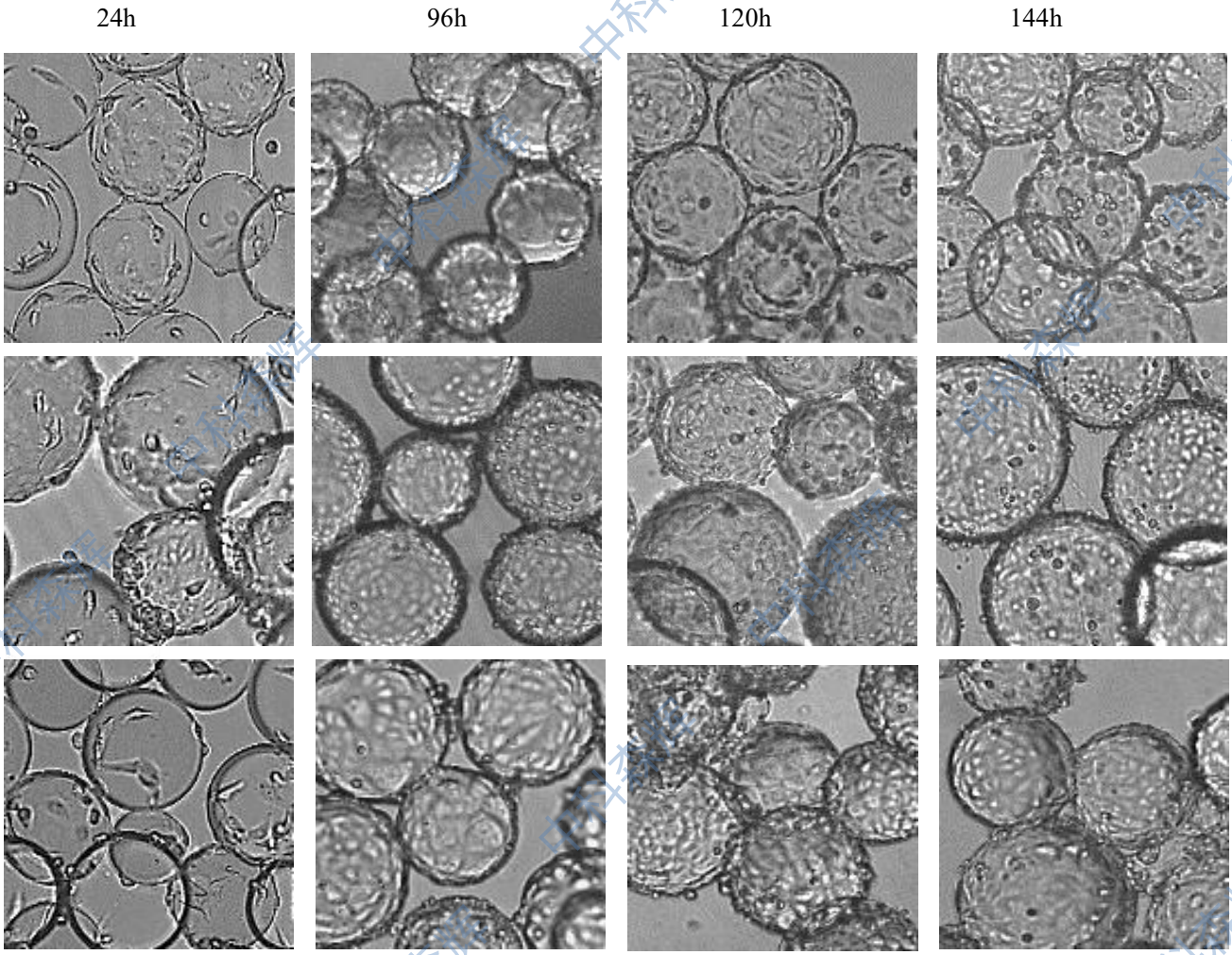
单位：×10^4/mL

	0h	96h	120h	144h
对照介质	0	65	104.04	100.12
1	0	69.6	108.04	106.12
2	0	66.08	110.32	103.32

3）细胞生长曲线



4）细胞培养图片



5）评价结果

SHMC-1225 微载体能够支持 VERO 细胞良好的生长，细胞培养效果与对照介质效果相当。

有关当地办事处的联系信息，请联系销售公司
销售/服务公司：中科森辉微球技术（苏州）有限公司
售后服务电话：0512-86867755-8003　传真：0512-86867758
Email：senhui@senhuimicrosphere.com
网址：www.senhuims.com
地址：苏州工业园区金鸡湖大道 99 号纳米城 NW-02 幢 713 室