

DMEM

贴壁细胞培养基

—— 用于生物制药研发及生产



DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, 杜氏改良 Eagle 培养基) 是一种成分明确的高糖型基础培养基, 含有 4.5 g/L 葡萄糖和 L-谷氨酰胺, 不含丙酮酸钠, 可用于支持生长快、粘附性低的贴壁细胞生长。DMEM 不含蛋白质、脂类或任何生长因子, 因此需搭配血清使用。

应用范围

DMEM 适用于科研和基于细胞培养的大规模生物制品的生产, 但不可直接用于人体或作为药物使用。

储存运输方法

储存: 2~8°C 冷藏, 干燥避光保存

运输: 常温 (液体)、冷藏 (干粉)

有效期

DMEM 基础培养基 (1X) 液体: 12 个月

DMEM DPM 干粉: 24 个月

液体培养基配制方法

1. 取最终配制体积 90% 的超纯水, 水温 25~35°C (注: 一次性配制体积不低于 1L);
2. 称量 13.375g/L 干粉培养基, 缓慢加入水中并搅拌;
3. 称量 3.7g/L 碳酸氢钠, 加入水中并持续搅拌;
4. 搅拌 20 分钟; 加 5N HCl 将 pH 调回至 7.0;
5. 加超纯水校正到最终配液体积;
6. 继续搅拌 10 分钟, 无菌过滤到合适容器。

干粉及液体培养基质量指标

产品指标	DMEM 基础培养基 (1X)	DMEM DPM
外观	透明液体	类白色或淡黄色、均一粉末
pH 值	7.0~7.5	7.0~7.5
渗透压(mOsm/kg)	310~355	310~355
溶解性	—	按配制规程操作溶解良好
内毒素(EU/mL)	<1.0	<1.0
无菌检查	应无菌生长	—

培养条件

温度 37°C, 湿度 95%, 5% CO₂

细胞复苏

1. 将 DMEM 培养基置于 37°C, 5% CO₂ 的环境中进行预热 30min;
2. 取出细胞冻存管, 迅速转移至 37°C 水浴中融化;
3. 将融化的细胞悬液转移至含有 5~10ml 新鲜培养基的无菌离心管中;

- 4.800rpm 低速离心 5min 后小心去掉上清；
- 5.用适量新鲜培养基重悬细胞，并转移至合适的培养容器中，添加适量血清，轻轻摇晃容器使细胞混匀后于 37°C，5% CO₂ 环境中进行培养；
- 6.在显微镜下观察当贴壁单层并且汇合度在 80%左右，进行传代。

细胞培养

- 1.取显微镜下观察生长良好、贴壁单层并且汇合度在 80%左右的贴壁细胞，根据需要选择合适体积培养容器；
- 2.预热 DMEM 培养基：将培养基置于 37°C，5% CO₂ 的环境中进行预热 30min；
- 3.从培养容器中吸出旧培养基并丢弃；
- 4.用不含钙、镁的平衡盐溶液冲洗细胞 3 次；
- 5.向培养容器中加入 0.25% 胰蛋白酶-EDTA，室温孵育 2min(实际孵育时间因细胞株而异)；
- 6.显微镜下观察解离情况，当解离程度超过 90%时，倾斜培养容器使细胞上液尽快流出，随后加入适量预热的培养基吹打细胞层表面，使其分散；
- 7.800rpm 低速离心 5min 后小心去掉上清，使用适量预热的培养基重悬细胞并分装至新的培养容器中，随后加入适量新鲜培养基与血清；
- 8.轻轻摇晃容器使细胞混匀后转移至 37°C，5% CO₂ 环境中进行培养。

细胞冻存

- 1.选择处于对数生长期的细胞进行冻存，活率>90%；
- 2.向程序降温盒中加入适量异丙醇后置于 4°C 环境预冷；
- 3.配制细胞冻存液：冻存液=DMEM+10%FBS+10%DMSO，冻存液配好后置于 4°C 环境预冷；
- 4.冻存密度：(0.5~1.5) $\times 10^7$ cells/ml；
- 5.取生长良好的贴壁细胞，0.25% 胰蛋白酶-EDTA 消化后使用新鲜培养基重悬，将细胞悬液进行 800rpm、5min 离心，弃去上清；
- 6.用适量细胞冻存液重悬细胞，取样计数，调整细胞密度至目标值；
- 7.快速分装细胞至冻存管，每管 1~2ml；
- 8.将冻存管放入程序降温盒中，-80°C 冰箱放置过夜后转移到液氮罐进行保存。

订购信息

基础培养基

产品	产品号	类型	规格
DMEM 基础培养基 (1X)	P081702-001	液体	1000ml
DMEM	P150509	干粉	10L/50L/100L



上海奥浦迈生物科技股份有限公司
Shanghai OPM Biosciences Co., Ltd.

奥浦迈总部：上海市浦东新区紫萍路908弄28号楼
CDMO 服务基地：上海市浦东新区半夏路100弄3号楼
培养基&CDMO 生产基地：上海市奉贤区正博路356号C3&D3

021-6818 2622
service@opmbiosciences.com
www.opmbiosciences.com

