

# OPM-MDCK SFM1

## MDCK 细胞无血清培养基 —— 用于疫苗研发及生产

**OPM-MDCK SFM1** 是专门针对 MDCK 细胞开发的设计开发的无血清培养基，适用于 MDCK 细胞无血清无微载体悬浮培养和禽流感等流感疫苗的生产。OPM-MDCK SFM1 含有 L-Glutamine，一般无需额外添加。

### 应用范围

OPM-MDCK SFM1 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

OPM-MDCK SFM1 Medium 液体：6 个月  
OPM-MDCK SFM1 DPM 干粉：18 个月

### 液体培养基配制方法

1. 量取最终配液体积 90% 的超纯水，水温 25~35°C。
2. 加入 18.65 g/L OPM-MDCK SFM1 干粉培养基，持续搅拌 20 分钟。
3. 加入 2.3 g/L 碳酸氢钠，持续搅拌 10 分钟。
4. 使用 1N NaOH 或者 1N HCl 调节 pH 至 7.2。
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。

### 培养条件

温度 37°C，5% CO<sub>2</sub>

### 细胞复苏

1. 在 37°C 水浴中快速（< 2 min）融化冷冻的细胞。
2. 将冷冻管中的细胞液全部转移到 125 ml 含有 30ml 预温过的 OPM-MDCK SFM1 培养基的摇瓶中。
3. 放入 37°C，5~8% CO<sub>2</sub>，转速 110~130 rpm（振幅 50 mm），湿度 80% 的摇床中培养。
4. 细胞至少传代 2 次，待其完全复苏，细胞倍增时间（Population Doubling Time, PDT）稳定后，可按计划进行后续操作。

### 细胞传代

1. 将 OPM-MDCK SFM1 培养基放入 37°C 条件下预热 20~30 min。
2. 取细胞密度  $\geq 1 \times 10^6$  cells/ml、活率  $\geq 90\%$ 、处于对数生长期中期的细胞进行传代。
3. 按接种密度为  $0.5 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^6$  cells/L 的最终传代体积，计算所需种子液量。
4. 无菌转移所需量的种子液，添加至含所需体积的已预热的 OPM-MDCK SFM1 培养基的摇瓶中。
5. 将摇瓶放入温度 37°C，湿度 80%，转速 110~150 rpm（振幅 50 mm），5%~8% CO<sub>2</sub> 的细胞培养摇床中进行培养。
6. 每 2~3 天用新鲜的培养基按上述步骤进行传代培养。

### 细胞驯化

#### 直接接种法

1. 对于可以直接接种的细胞，可以从无血清培养基中直接接种到 OPM-MDCK SFM1 培养基中，接种密度参考传代步骤，并需要依据具体情况而定。
2. 继续传代细胞，直到细胞稳定生长。
3. 传代几次后，细胞密度在接种的 3~4 天内达到  $2 \times 10^6$  cells/ml 及以上、细胞活率  $> 90\%$ ，且倍增时间稳定，此时可以认为细胞已被驯化成功。

### 梯度驯化法

1. 对于传统的生长在 5~10%血清或无血清的细胞，采用梯度驯化法，接种密度  $3 \times 10^5 \sim 4 \times 10^5$  cells/ml。
2. 监测细胞生长情况，直到细胞密度达到  $\geq 2 \times 10^6$  cells/ml。
3. 用 OPM-MDCK SFM1 培养基：原始培养基=25:75 的比例稀释细胞。直到这个比例的培养基细胞生长良好，再进一步稀释培养。在接下来的每次操作中，提高 OPM-MDCK SFM1 培养基的比例，如下表所示。
4. 在完全使用 OPM-MDCK SFM1 培养基接种 3~4 天之后，活细胞计数应该至少达到  $2 \times 10^6$  cells/ml，细胞活性  $\geq 90\%$ 。此时，细胞已经驯化到 OPM-MDCK SFM1 培养基中。

OPM-MDCK SFM1: 原始培养基 (%)	接种细胞密度 ( $\times 10^5$ cells/ml)	细胞生长评估	进行下一步前的验收标准
25 : 75	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /ml, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
50 : 50	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /ml, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
75 : 25	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /ml, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
90 : 10	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /ml, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
100 : 0	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /ml, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages

### 细胞冻存

1. 准备处于指数生长的中期，细胞活率  $> 90\%$ ，状态较好的细胞。
2. 测定活细胞密度，计算所需的冻存培养基体积，最终细胞密度  $> 1 \times 10^7$  cells/ml。
3. 准备所需的冻存培养基 90% OPM-MDCK SFM1 培养基+10%DMSO，4°C冷藏保存。
4.  $400 \times g$  离心 5 分钟，用冻存培养基重新悬浮细胞。
5. 根据项目具体需要，将悬浮液进行等分保存于适宜规格的冷冻管中。
6. 按照标准程序，对冷冻管进行自动或手工操作降温（每分钟降 1°C）。
7. 将细胞转移到液氮罐中保存。

**订购信息****基础培养基**

产品	产品号	类型	规格
OPM-MDCK SFM1 medium	V003101-001	液体	1000ml
OPM-MDCK SFM1 DPM	V003201-010	干粉	10L

