



赛百慷（上海）生物技术股份有限公司

原代细胞培养体系配置方法

原代代培养体系一般由以下四种（三种）组成：

名称	体积	保存条件
基础培养基	500ml	4℃、避光
添加剂	5ml	-20℃、避光
胎牛血清（FBS）	0-50ml	-20℃、避光
双抗（青霉素/链霉素，P/S）	5ml	-20℃、避光

添加剂和双抗通常浓度为 100X(100 倍工作浓度)。血清的添加比例有 0%(不添加)，1%(5ml)，2%（10ml），5%（25ml），10%（50ml）几种。

第一次使用时先将-20℃保存的添加剂、双抗、FBS 转移到 4℃溶解后，在灭菌后的百级洁净等级环境中操作，所使用的容器和移液耗材均需要进行过无菌处理。

首先将解冻的 FBS、添加剂和双抗进行分装，平均分装成 5-10 份，留下本次配制所需要的量，剩余的继续放回-20℃保存，之后按需取用融化后配制完全培养基，避免反复冻融。

建议用无菌的 50ml 离心管盛装配置好的完全培养基。

配制方法：在每个 50ml 离心管中加入①500ul 添加剂、②500ul 双抗、③50×血清百分比 ml 的胎牛血清、④（50×（1-血清百分比）-1）ml 的基础培养基。配制完成后盖上盖子，颠倒混匀备用。

例如：在血清比例为 5%的条件下，50ml 离心管中各组分的体积分别为：

基础培养基：（50×（1-5%）-1）=46.5ml+添加剂：500ul+双抗：500ul+血清：50×5%=2.5ml

配置好的培养基置于 4℃避光保存。由于添加剂中有很多重组蛋白，易发生降解，故配置好的完全培养基有效期仅为 3-4 周，请尽快使用。因此建议每次配制 1-2 管（50-100ml），当然使用量大的情况下也可以适量增加配置量。

P. S.：不建议客户将全部的血清、双抗、添加剂直接加入基础培养中混匀使用，原因如下：
1.500ml 的基础培养基的体积较大，灌装时体积波动很大，直接加入，无法准确地控制因子和血清的工作浓度。

2. 配制好的培养基仅能在 4℃保存 3-4 周，如果期间没用完，继续使用会影响培养效果。

如果是-20℃保存，可以延长保存时间，但是反复冻融也会影响完全培养基的效果。

3. 如果使用培养基时由于操作失误导致污染，分装能减少培养基的损失量。