珠海恺瑞无血清培养基本要素（1.3版）

# 无血清培养液的使用

哺乳动物细胞的无血清培养技术已经被广泛应用于生物医学基础研究及生物医药的研发和生产。珠海恺瑞生物科技有限公司研发及生产用于高密度无血清悬浮培养的CHO和HEK293细胞培养液，以及其它多种细胞的特殊无血清培养体系，包括用于培养杂交瘤细胞、干细胞、NK细胞及T细胞等细胞的各种化学限定无血清培养液及重组蛋白添加因子。

在体外模拟生理条件的无血清细胞培养系统通常涉及如下试剂，需要根据无血清培养的基本方法以及不同细胞的特点搭配使用。

1. **基础培养液**： 基础培养液为细胞提供细胞生长所需的所有营养物质，需要在医用冰箱（4-8℃）中避光保存。
2. **基础添加因子**（如ITSplus）：大多数细胞在无血清培养环境下都需要胰岛素、转运蛋白和微量元素硒。因为这些生长因子的不稳定性，所以在使用时临时添加效果最佳，切勿将ITSplus 加入培养液后长期保存，否则会失去活性。
3. **细胞种类特异生长因子或细胞因子**：不同种类的细胞所需的特异生长因子有所不同。
4. T细胞需要CD3抗体、CD28抗体和IL-2 等作为刺激T细胞活化和生长的因子；
5. NK 细胞需要IL-2、IL-12和IL-15；
6. 扩增脐带血NK细胞则需要Stem Cell Factor、flt-3 配体、TPO、IL-2、IL-7 和IL-15；
7. 间充质干细胞需要EGF、碱性FGF、酸性FGF、PDGF和肝素；
8. 人 ES和IPS 细胞需要肝素、碱性FGF和TGFβ。
9. 由于这些因子在常温下活性较易丧失，因此使用者需根据自己每次实验的使用量分装冻存（-20℃ 或-80℃），避免反复冻融。
10. **贴壁因子**：除血细胞（包括T细胞， B细胞和NK细胞）不需要贴壁因子外，大多数细胞在单层无血清培养时需要贴壁因子， 比如用胶原蛋白培养上皮细胞、用Laminin 培养ES和iPS细胞以及神经细胞等。

珠海恺瑞生物提供的基础培养液和ITSplus可以满足上述第一和第二项条件。用户在使用珠海恺瑞无血清培养液替换现用培养液时，可以根据自身经验，使用不同的因子来全面满足特定细胞的无血清培养条件，或可尝试使用珠海恺瑞推荐的其它替代产品。

# 无血清培养主要注意事项

在使用胎牛血清培养时，血清除了提供可以满足细胞生长的基本因子以外，还对细胞提供一定的保护作用，包括抑制蛋白酶活性和起胶体保护作用。因为这些原因， 在做无血清培养时需要注意如下几点：

1. 不必将培养液在37℃预热，以免添加的生长因子在37℃温度下迅速降低活性；
2. 使用胰酶或胶原蛋白酶分离细胞或传代细胞时一定要在酶消化结束后用培养液将细胞清洗两次以上以去除残余的蛋白酶，否则残余蛋白酶会导致细胞死亡；
3. 确保使用低温保存且具有生物活性的生长因子，避免使用常温保存或反复冻融的产品。