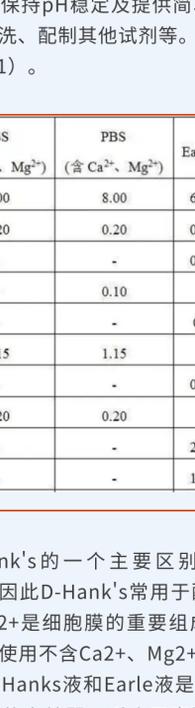


小知识

细胞培养基的种类

按照细胞培养基的发展历史，细胞培养基大致可分为平衡盐溶液、天然细胞培养基、合成细胞培养基、无血清细胞培养基、限定化学成分细胞培养基等几大大类。

1 平衡盐溶液 (balanced salt solution, BSS)



BSS主要是由无机盐、葡萄糖组成，它的作用是维持细胞渗透压平衡，保持pH稳定及提供简单的营养。其主要用于细胞的漂洗、配制其他试剂等。几种常用的BSS配方如下（表1-1）。

名称	PBS (无Ca ²⁺ 、Mg ²⁺)	PBS (含Ca ²⁺ 、Mg ²⁺)	Earle's	Hank's	D-Hank's
NaCl	8.00	8.00	6.80	8.00	8.00
KCl	0.20	0.20	0.40	0.40	0.40
CaCl ₂	-	-	0.20	0.14	-
MgCl ₂ · 6H ₂ O	-	0.10	-	-	-
MgSO ₄ · 7H ₂ O	-	-	0.2	0.2	-
Na ₂ HPO ₄	1.15	1.15	-	0.048	0.048
NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	-	-	0.14	-	-
KH ₂ PO ₄	0.20	0.20	-	0.06	0.06
NaHCO ₃	-	-	2.20	0.35	0.35
葡萄糖	-	-	1.00	1.00	-

D-Hank's与Hank's的一个主要区别是前者不含有Ca²⁺和Mg²⁺，因此D-Hank's常用于配制胰酶溶液。因为Ca²⁺、Mg²⁺是细胞膜的重要组成成份，参与细胞粘附等功能，使用不含Ca²⁺、Mg²⁺的BSS可避免细胞结团。此外，Hanks液和Earle液是常用的BSS基础溶液，前者缓冲能力较弱，适合于密闭培养；后者缓冲能力较强，适合于5% CO₂的培养条件。

2 天然细胞培养基

天然培养基指来自动物体液或利用组织分离提取的一类培养基，如血浆、血清、淋巴液、鸡胚浸出液等。其优点是营养成分丰富，培养效果好，但缺点是成分复杂，来源受限且制作过程复杂、批间差异大。目前广泛使用的天然培养基是血清，另外各种组织提取液、促进细胞贴壁的胶原类物质在培养某些特殊细胞也是必不可少。

水解乳蛋白是乳白蛋白经蛋白酶和肽酶水解的产物，含丰富的多肽、氨基酸和碳水化合物。一般配制成0.5%溶液（采用平衡盐溶液溶解）与合成培养基（如MEM细胞培养基）以1:1的比例混合使用。

目前用于细胞培养的血清主要是牛血清，培养某些特殊细胞也用人血清、马血清等。牛血清对绝大多数哺乳动物细胞都是适合的，但并不排除在培养某种细胞时使用其他动物血清更合适。血清中含有各种血浆蛋白、多肽、脂肪、碳水化合物、生长因子、激素、无机物等，这些物质对促进细胞生长或抑制生长活性是达到生理平衡的。此外，血清含一些对细胞产生毒性的物质，如多胺氧化酶，能与来自高度繁殖细胞的多胺反应（如精胺、亚精胺）形成有细胞毒性作用的聚精胺。补体、抗体、细菌毒素等都会影响细胞生长，甚至造成细胞死亡。目前，血清多作为一种添加成分与合成培养基混合使用，使用浓度一般为5~20%，最常用是10%。

由于水解乳蛋白和血清成份复杂，批间差异大及存在病毒等外源污染风险，对下游生物制品的分离纯化和安全性都存在较大的影响，在生物制药行业的使用也越来越少。因此，基于对血浆成份的分析，合成细胞培养基应运而生。

3 合成细胞培养基

合成培养基（synthetic medium），又称为组合培养基，是通过顺序加入准确称量的高纯度化学试剂与蒸馏水配制而成的，其所含的成分（包括微量元素在内）以及他们的量都是确切可知的。合成培养基一般用于实验室中进行的营养、代谢、遗传、鉴定和生物测定等定量要求较高的研究。合成培养基是根据天然培养基的成分，用化学物质模拟合成、人工设计、配制的培养基。最早开发的基础培养基（minimal essential medium, MEM），其本质为含有盐、氨基酸、维生素和其他必需营养物的pH缓冲的等渗混合物。在此基础上，DMEM、IMDM、HAM F12、PRMI1640等各种合成细胞培养基被不断开发出来。常用合成培养基的配方此处不详细介绍，其特性及应用的范围见表：

经历了千百年的相持后,我们终于看到了战胜贫困的曙光。

经历了千百年的相持后,我们终于看到了战胜贫困的曙光。胜利在向我们招手，更加美好的未来需要我们共同创造。

培养基名称	特性及应用范围
199细胞培养基	添加适量的血清后，可广泛用于多种细胞培养，并用于病毒学、疫苗生产等。
MEM细胞培养基	MEM (Minimal Essential Medium) 培养基含有Earle's平衡盐的类型，也有含Hank's平衡盐的类型；有高压灭菌型的，也有过滤除菌型的；还有含非必需氨基酸的类型，是最基本、适用范围最广的细胞培养基。
DMEM细胞培养基	DMEM (Dulbecco's modified Minimal Essential Medium) 是由Dulbecco在MEM培养基的基础上改良获得的，各成份量加倍，分低糖（1000mg/L）、高糖（4500mg/L）两种类型。细胞生长快。附着相的骨髓瘤细胞、克隆培养用高糖效果较好，常用于杂交瘤的骨髓瘤细胞和DNA转染的转化细胞培养。
IMDM细胞培养基	IMDM (Iscove's modified DMEM) 是由Iscove在DMEM基础上改良，增加了几种氨基酸和脱氧核糖等。可用于杂交瘤细胞培养，以及无血清培养的基础细胞培养基。
RFME-1640细胞培养基	专门针对淋巴细胞培养设计，含有BSS、21种氨基酸、维生素等，广泛适用于多种正常细胞和肿瘤细胞的培养，也用做悬浮细胞培养。
HanF12细胞培养基	含微量元素，可在血清含量低时用，适用于克隆化培养。F12适用于CHO细胞，也是无血清细胞培养基中常用的基础细胞培养基。
DMEM/F12细胞培养基	将DMEM和F12按照1:1比例混合，混合后营养成分丰富，血清使用量也减少，常作为开发无血清细胞培养基时的基础细胞培养基。

与天然培养基相比，有些天然的未知成分尚无法用已知的化学成分所替代，因此，细胞培养中使用合成培养基时必须加入一定量的天然培养基成分，以克服合成培养基的不足。最普遍的做法是添加5~10%的血清，这样才能维持细胞活力，促进细胞增殖。针对不同的动物细胞，现已开发了多种商业化、个性化的低血清细胞培养基配方，营养成分更加丰富，血清使用量可降低至1~3%，由此可减少血清等动物来源成份对生物制品安全性的影响。

4 无血清细胞培养基 (serum free medium, SFM)

经历了天然培养基、合成培养基后，无血清培养基和无血清培养成为当今细胞培养领域的一大趋势。采用无血清培养可降低生产成本，简化分离纯化步骤，避免病毒污染造成的危害。无血清培养基，一般是在合成培养基的基础上，加入成份完全明确的或部分明确的血清替代成份，达到既能满足动物细胞培养的要求，又能有效克服使用血清所带来问题的目的。

无血清培养基中通常需要添加一些额外的组分，才能帮助细胞贴壁生长，包括以下几大类物质：

0.1 促贴壁物质：

一般为细胞外基质，如纤连蛋白、层粘连蛋白等。它们还是重要的分裂素以及维持正常细胞功能的分化因子，对许多细胞的增殖和分化，起着重要作用。纤连蛋白主要促进来自中胚层细胞的贴壁与分化，这些细胞包括成纤维细胞、肉瘤细胞、粒细胞、肾上皮细胞、肾上腺皮质细胞、CHO细胞、成肌细胞等。

0.2 促生长因子及激素：

针对不同细胞添加不同的生长因子。激素也是刺激细胞生长、维持细胞功能的重要物质，有些激素是许多细胞必不可少的，如胰岛素。

0.3 酶抑制剂：

培养贴壁生长的细胞，需要用胰酶消化传代，在无血清培养基中需含酶抑制剂，以终止酶的消化作用，达到保护细胞的目的。最常用的是大豆胰酶抑制剂。

0.4 结合蛋白和转运蛋白：

常见如转铁蛋白和牛血清白蛋白。牛血清白蛋白的添加量比较大，可增加培养基的粘度，保护细胞免受机械损伤。许多旋转式培养无血清培养基都含有牛血清白蛋白。

0.5 微量元素：

硒是最常见的

5 无蛋白无血清细胞培养基与化学组份限定无血清细胞培养基

0.1 无蛋白无血清细胞培养基 (protein free medium, PFM)

这类培养基完全不含动物来源蛋白，但仍有部份添加物是植物蛋白的小水解片段或合成多肽片段，以及类固醇激素和脂类前体等，以替代动物激素、生长因子的作用。其特点是完全没有蛋白或蛋白含量极低，有利于生物制品的分离纯化。

0.2 化学组份限定无血清细胞培养基 (Chemically defined media, CDM)

此类培养基是目前最安全、最为理想的无血清细胞培养基，所有成份的浓度都完全明确，即使其所添加的少量蛋白，也是可经过纯化处理，成份明确、浓度确定的蛋白。这类培养基较为理想地减少了生产的可变性，提高了生产工艺的重复性，并有效降低了纯化成本。

6 个性化细胞培养基

严格意义上来说，个性化细胞培养基不在细胞培养基的传统分类之列，其具体是指一类根据细胞特性、细胞培养工艺特点、使用者需求习惯而量身定制的细胞培养基，主要目的是提高细胞产率、产品质量、产品安全性和降低血清的使用等。个性化细胞培养基可能是无血清培养基，也可能是低血清培养基，最终是为满足某一种或某一类生物制品的生产需求。

总之：细胞培养基应用范围也十分广泛，主要为生物制药生产领域和科学研究领域两方面。在生物制药生产领域的应用包括疫苗生产（例如病毒性疫苗、多肽疫苗）、基因工程药物生产（例如促红细胞生成素）、抗体/基因治疗药物生产、细胞工程药物生产和利用细胞法体外测定生物活性物质的活性等。在生物制药中，选用合适的、高质量的培养基可以大幅度提高生物制品表达量，降低生物制品的单位制造成本。在科学研究领域的应用一方面为药物研究开发例如新药筛选、疫苗开发、基因工程药物、细胞工程药物研究与开发、单克隆抗体制备等，另一方面为基础研究例如药物作用机理、基因功能、疾病发生机理研究等。在科学研究中，培养基的合理选择可以尽可能地减少试验中的不稳定因素，带来更加稳定可靠的试验结果。细胞培养基的下游商业化应用主要包括三个方向：重组蛋白/抗体药物生产、疫苗生产、基因治疗/细胞治疗药物生产。不同的应用方向需要的细胞类型不同，对于细胞培养基的性能特点和生产需求存在很大差异，包括技术难度、生产工艺、产品形式等等。

总体上，抗体药物及基因治疗、细胞治疗药物生产用的培养基技术难度高、生产工艺复杂、个性化需求高、且价格偏高，属于技术门槛较高的细分领域。

点击下面的二维码，关注我们！

END