



型号: V01

3D TableTriX®

微载体V01 (疫苗用)

文件编号: V01-DF0002

版本号: V2303



北京华鑫生物科技有限公司
BEIJING CYTONICHE BIOTECH CO., LTD.



电话: 400-012-6688
网址: <http://www.cytoniche.com/>
地址: 北京市海淀区益园文创基地B区1号楼208号

北京华鑫生物科技有限公司
BEIJING CYTONICHE BIOTECH CO., LTD.

目录

1. 产品简介	3
2. 灭菌	3
3. 储存	3
4. 使用方法*	3
5. 培养效果	6
6. 订购信息	6



1. 产品简介

3D TableTrix® 微载体 V01（疫苗用）是北京华鑫生物科技有限公司原研产品，由数万颗弹性三维多孔微载体组成，孔隙率>90%，粒径大小可控于 50~500 μm 区间，均一度≤100 μm，形成真正的 3D 仿生培养，且原材料选用具备药用辅料资质。适用于 Vero 细胞系、Marc-145 细胞系、MDCK 细胞系、人二倍体细胞、PK-15 细胞系、BHK21 系、鱼脑细胞、猫肾细胞等扩增培养以及病毒生产。支持在线灭菌，配合特异性降解技术，可实现细胞温和收获。微载体残留及裂解液残留，已获得中检院残留检测报告及相关安全性评价报告。结合 3D FloTrix® 动态培养工艺，可实现定制化、规模化、智能化、标准化的大规模细胞扩增。

2. 灭菌

2.1 3D TableTrix®微载体 V01（疫苗用）以干粉形式供货，使用前必须进行灭菌。

2.2 微载体非常稳定，使用前可以用 PBS 浸泡（20g/L）后 115℃或 121℃，15~30min 对微载体高温灭菌（最高可耐受 130℃高温灭菌）。

2.3 灭菌时 PBS 溶液的 pH 值应为 7.2~7.4。

3. 储存

3.1 微载体应在常温干燥储存条件下存放，并在产品有效期内使用。

3.2 灭菌后的微载体应在 2~8℃下用 PBS 溶液无菌储存。

4. 使用方法*

4.1 参考物料

4.1.1 3D FloTrix® miniSPIN 生物反应器，配套 125mL/500mL 透气内置叶轮培养瓶（SF125/SF500，以下简称培养瓶）；或采用 CO₂ 恒温摇床，配套 125~500mL 平底透气摇瓶（以下简称摇瓶）。

4.1.2 微载体型号：3D TableTrix® 微载体 V01(疫苗用)

4.1.3 培养基：接种时：90% DMEM（高糖 4.5g/L，含酚红）+ 10%新生牛血清或胎牛血清（NBS/FBS）

换液时：95% DMEM + 5% NBS（或 98% DMEM + 2% NBS）

4.1.4 冻存液：90% FBS + 10% DMSO（推荐）或 55%基础培养基 + 40% FBS+ 5% DMSO



4.1.5 细胞消化：0.25%胰酶（Trypsin-EDTA）；重组胰蛋白酶（1×，10×）

4.1.6 3D FloTrix® 荧光染液（R002-100），即细胞活死荧光染色试剂盒

4.1.7 血糖仪或血气分析仪

4.2 实验前准备

4.2.1 参照 3D FloTrix® miniSPIN 生物反应器说明书或《华龛 miniSPIN 培养体系简要使用说明》、操作视频，进行设备的调试和安装、培养瓶的清洗和组装。

4.2.2 微载体进行灭菌，简述如下：

a. 微载体称取：用称量纸称取所需质量的微载体，尽量减少载体飞散，倒于培养瓶/摇瓶底部（如果培养的瓶数多，可以统一将微载体在玻璃瓶中灭菌后再分到各个培养瓶或摇瓶中）。

b. 微载体灭菌：建议每 1g 微载体用 50mL PBS 浸泡，即 20g/L 用量。如有吸附在培养瓶/摇瓶侧壁上的载体，可用移液枪吸取 PBS 冲洗，添加相应比例 PBS 浸泡称取的微载体。把装有 PBS 和微载体的培养瓶/摇瓶放入高压灭菌锅中灭菌：121°C 30min，待降至室温后备用；灭菌后可于 4°C 暂存 7 天左右。

c. 置换 PBS：细胞接种前尽量吸弃 PBS，加入培养瓶中现有 PBS 约 3~4 倍体积的基础培养基，待微载体自然沉降后尽可能多地吸走上清，以置换出 PBS。

注：PBS 浸泡载体后可直接灭菌，最晚 6h 内开始灭菌，禁止载体 PBS 浸泡后在非无菌状态下放置过夜。

4.3 培养步骤

4.3.1 细胞密度：2~5×10⁵ cells/mL

4.3.2 微载体投料浓度：2~4g/L 培养基；（例如：3g/L 微载体，2×10⁵ cells/mL）

4.3.3 转速设置：

a. 培养瓶采用“间隔启动”模式，设置 v1 = 35~40rpm 5min，v2 = 0rpm 25min，v3 不设置，总共 50 次循环；4~16h（人二倍体细胞在 4~6h，其余细胞 6h 以上）后调整为恒速 40~45rpm，能使微载体均匀分布即可；

b. 摇瓶采用类似的间速模式，设置 0~11 段转速为 v1 = 100rpm 5min，v2 = 0rpm 50min，6h 后改为 80rpm。

4.4 检测细胞生长



4.4.1 细胞取样计数:

- a. 将培养瓶放置于超净台中的取样台上（若无取样台，可手动摇匀同时取样，否则取样数据代表性不强；摇瓶取样时可采用手动摇匀法），待微载体和培养基搅拌均匀后，使用电动移液管吸取 1mL 微载体悬液于 1.5mL 离心管中（每次取 2~3 管作为平行数据），离心 400g，5min。
- b. 弃除离心管中上清，并用 PBS 清洗一次以去除血清残留，再加 0.25%胰酶（Trypsin-EDTA）至 1mL；
- c. 将胰酶与微载体吹打混匀后放入 37°C水浴锅，每隔 3~5min 观察并吹打混匀，约需 4~10min。
- d. 待微载体全部裂解后（且细胞基本单悬），取适量细胞悬液用台盼蓝染色后进行总细胞和活细胞计数，计算活细胞率。

*备选方法：结晶紫细胞核计数：同上述细胞计数方法 a. ~c.，载体完全裂解后离心弃上清，加入 0.1% 结晶紫-柠檬酸溶液至 1mL，用移液枪吹打均匀后涡旋震荡，置于 37°C裂解细胞，每 30min 进行涡旋振荡以促进破碎细胞释放细胞核，4h 后选择“颗粒模式”进行细胞核计数。

4.4.2 细胞取样染色：参照《R002-DF0002 3D FloTrix® 细胞活性染色试剂盒说明书》、操作视频，制样拍照。

4.4.3 利用血糖仪或血气分析仪监测培养上清中的葡萄糖含量，并观察培养上清颜色变化（建议测定培养上清的 pH 值）；推荐葡萄糖含量低于 1g/L 时，进行 80%体积换液。

4.5 细胞传代/收获

4.5.1 事先取样计数，之后清洗微载体：

将培养瓶/摇瓶取出于超净台中静置，待微载体自然沉降后，尽可能多地弃除上清（注意不要将微载体吸走），加入剩余微载体悬液 1~4 倍体积的 PBS 置于取样台上搅拌 10s（或手动摇晃）充分清洗，静置后吸弃上清，以此方法清洗 2~3 次以去除血清残留（上清无明显酚红颜色为止）。

4.5.2 不降解载体传代，重组胰蛋白酶消化细胞：

使用终浓度为 50%的重组胰酶进行消化（1×重组胰酶：PBS=1：1）（注意：MARC-145 细胞需使用终浓度为 1×的重组胰酶消化），置于 37°C培养箱 45~60rpm 约需 25min~45min，用 3 倍浓度的 AM/PI 染剂染色后在显微镜下观察，待细胞 80%以上脱落且细胞单悬后结束消化，加入适量完全培养基终止消化。

4.5.3 降解微载体收获细胞/传代：

降解微载体（培养瓶）：向 5.5.1 步骤中微载体悬液中添加终浓度为 2×的重组胰蛋白酶，置于 37°C 培养箱以培养转速（不超过 60rpm）降解微载体，约需 20~35min；明场镜检，基本无载体、仅剩下细胞或细胞团时，即可加入适量完全培养基终止裂解。



4.5.4 细胞接种：根据计数结果接种相应体积微组织或细胞悬液至下一代，加入完全培养基至最终培养体积。并取样计数实际接种密度细胞重悬。

(*适用于通过 3D FloTrix® miniSPIN 生物反应器进行细胞培养。)

5. 培养效果

5.1 培养条件：

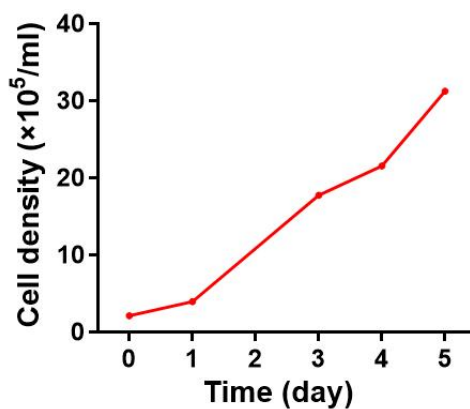
载体密度 2g/L，细胞接种密度 20 万/mL。

5.2 接种时：

使用 10% 新生牛血清（NBS）的 DMEM；换液：使用 2% NBS 的 DMEM。

5.3 培养结果：

细胞增殖良好，5 天细胞密度达 300 万/mL（如下图所示）。



6. 订购信息

型号	品名	规格
V01-100-10g	3D TableTrix® 微载体 V01（疫苗用）	100g
V01-100g	3D TableTrix® 微载体 V01（疫苗用）	100g
V01-300g	3D TableTrix® 微载体 V01（疫苗用）	300g
V01-500g	3D TableTrix® 微载体 V01（疫苗用）	500g

