

# 獲得優質細胞與有效的實驗數據?從把細胞養好開始!!

## 從基礎的細胞培養把關細胞品質

細胞培養是所有實驗的基礎，首先必須要有穩定的培養狀況，才能區別、判定差異性，也才能將測試結果實際應用到治療、製程等應用層面。一般來說，細胞培養所需的基本條件為氣體、溫度與培養基，前 2 者藉由 CO<sub>2</sub> 培養箱穩定運行，培養基的部分在大多時候是需要由操作者依據不同細胞株，以進行半客製化，其中主要著重於下列幾項主要成份：

### 1. 5-20% 血清

細胞種類多元，一般難以將每種細胞所需的營養進行 100% 解析，使用動物血清進行培養，是目前供給細胞營養豐富度的重要來源。血清中提供許多必須營養素(Protein, Lipid etc.)，並且含有許多生長因子和激素(Growth factors, Hormones)，能夠幫助細胞貼附、維持培養環境的穩定(pH, Osmolality, surface tension, Viscosity)，更有助於提高生長細胞數、增加存活率、延長繼代數，以及使細胞型態與 Cell marker 表現穩定。

其它操作建議：

[關於血清的那些事兒\(一\) 血清中的沉澱](#)

[關於血清的那些事兒\(二\) 反復凍融對血清的影響](#)

[關於血清的那些事兒\(三\) 和血清熱去活化說 No](#)

### 2. 基礎培養基

隨多年的測試與研究發展，大部分已知且可自行製造的營養物配方已經發展成商業化的基礎培養基，其中包含各種成分與比例的碳源(Glucose、Sodium Pyruvate)、胺基酸、維生素、無機鹽類。並且以不同緩衝效能的 buffer 為基底，其中添加 HEPES 與 Sodium Bicarbonate 中和

CO<sub>2</sub> 溶於液體造成的酸性(低 pH 值)及緩衝 pH。

### 3. 抗生素

細胞由於沒有細胞壁，因此對於大部分的抗生素具有抵抗性。剛分離的細胞有潛在汙染源或是怕環境、操作造成汙染時，可以添加抗生素在培養基中做為預防性措施。一般針對細菌汙染常用的是 penicillin/streptomycin 二合一混合液，若是對於真菌/酵母菌可以選用 penicillin/streptomycin/amphotericin B 三合一混合液。



圖一 培養基組成一般由操作者依據不同細胞株進行半客製化。

此外，細胞的最外圍僅有薄薄的細胞膜，因而是敏感且脆弱的，因此在備置細胞培養基或是會直接接觸細胞的溶液時，都會特別留意 pH 範圍應介於 7.1-7.4、滲透壓(Osmolality)介於 310-340 mOsm/kg，血紅素(Hemoglobin)會造成鉀離子濃度上升，改變細胞生理活性，如細胞內外滲透壓、電解質平衡、酸鹼平衡等，所以建議控制在 $\leq 10$  mg/dL。其它像是內毒素(Endotoxin)因為會對細胞造成毒性、或可能造成不必要的細胞分化，一般也建議控制在 $\leq 10$  EU/ml。

### 凍存流程控制以延續優質細胞

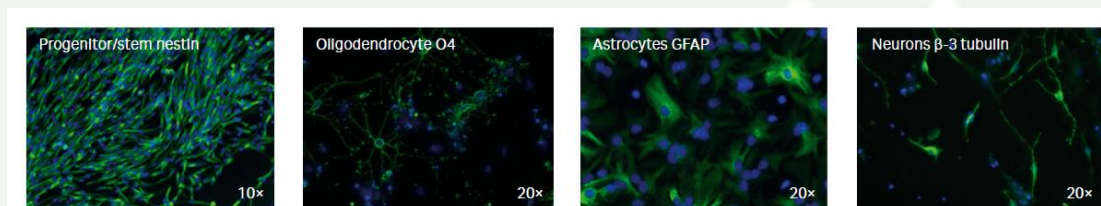
細胞冷凍是細胞培養技術的關鍵步驟，選擇合適的細胞狀態、收集細胞、確認細胞品質、到凍存液的選擇與冷凍品管理，都會影響細胞的活性及其表現。不當的冷凍和解凍步驟會降低細胞的存活

率，更可能改變細胞特性，而使得試驗前後無法連貫。

凍存建議在細胞最健康活躍，也就是在對數期(Log phase)進行，細胞密度則建議落在  $1-2 \times 10^6$  cells/ml，只需以 Condition medium:凍存液=1:1 的混合，以(1)約 1 分鐘降  $1^{\circ}\text{C}$  的速率緩慢降溫，或(2)置於抗凍盒內後移置  $-80^{\circ}\text{C}$  至少 24 小時，之後再移置液態氮中以低於  $-130^{\circ}\text{C}$  的溫度下進行長時間的保存。取出凍存的細胞後，置於  $37^{\circ}\text{C}$  的水浴槽中溫和地搖晃加速回溫約 1-2 分鐘，低速離心去除抗凍液再以 10 倍稀釋加入 Fresh medium，活化後的 24 小時內為細胞存活率的低點，過了 24 小時後細胞便會逐漸恢復活性。

其它操作建議:

### [解凍細胞大解密](#)



圖二 冷凍在 HyCryo-STEM 凍存液中的細胞仍保有其分化能力的特性。

### 全球領先的細胞培養產品供應商--HyClone

HyClone 從 1975 年開始致力於血清、液體和粉末培養基、製程液體和液體處理系統的製造，以完善的質量體系、製造流程和優質產品，作為全球領先品牌支持生物製藥的研究和生產需求。

更多[細胞培養產品請點我](#)，或洽岑祥當區業務。