

## 细胞培养基中的添加剂及其作用

培养某一类型细胞没有固定的培养条件。在 MEM 中培养的细胞，很可能在 DMEM 或 M199 中同样很容易生长。总之，首选 MEM 做贴壁细胞培养。RPMI-1640 做悬浮细胞和人白血病细胞单层培养是一个好的开始，它也广泛应用于哺乳动物细胞和杂交瘤细胞的培养，如人骨髓瘤细胞、鼠杂交瘤细胞、人白细胞以及 B 细胞和 T 细胞。

选择细胞的培养基也可以到 ATCC 上查询，ATCC (American Type Culture Collection) 收集了绝大多数细胞的详细资料。打开 ATCC 网页的 Cells and hybridomas 链接，输入细胞名称就可以搜索 ATCC 的细胞数据库。数据库中有每一种细胞的详细描述，包括细胞的来源，培养和冻存条件，以及相关文献等资料。

同一种培养基也会因其添加物的不同而应用于不同的细胞培养和不同的实验需求，下面就详细介绍下培养基中各种添加剂的功能。

### 1. L-谷氨酰胺(L-Glutamine)

是细胞生长的必须氨基酸，为培养的细胞提供重要的能量来源。脱掉氨基后，L-谷氨酰胺可作为培养细胞的能量来源、参与蛋白质的合成和核酸代谢（DNA 合成的原料）。L-谷氨酰胺在溶液中经过一段时间后会降解，降解率随保存温度而变。L-谷氨酰胺的降解导致氨的形成，而氨对于一些细胞具有毒性。

### 2. GlutaMAX-I

GlutaMAX-I 二肽是 L - 谷氨酰胺的衍生物，将其不稳定的 $\alpha$  - 氨基用 L - 丙氨酸来保护。一种肽酶逐渐裂解二肽，释放 L - 谷氨酰胺供利用。

GlutaMAX-I 二肽非常稳定，即使在 121°C 灭菌 20 分钟，GlutaMAX-I 二肽溶液有最小的降解，如果在相同条件下，L - 谷氨酰胺几乎完全降解。

### 3. 丙酮酸钠 ( Sodium pyruvate )

丙酮酸钠可以作为细胞培养中的替代碳源，尽管细胞更倾向于以葡萄糖作为碳源，但是，如果没有葡萄糖的话，细胞也可以代谢丙酮酸钠。所以丙酮酸钠一般只在培养分裂增长迅速，能量代谢快的细胞类型时加，生长缓慢的细胞一般不必加。

### 4. Hank's 平衡盐溶液(HBS)和 Earle's 平衡盐溶液(EBS)

HBS 和 EBS 的主要差别在于碳酸氢钠的水平，在 Eagle's (2.2g/L) 中比在 Hanks' (0.35g/L) 中高。碳酸氢钠需用高水平的 CO<sub>2</sub> 平衡，以维持溶液的 PH 值。Eagle's 液在空气水平的 CO<sub>2</sub> 中，溶液会变碱，Hanks' 液在 CO<sub>2</sub> 培养箱中会变酸。

如果希望在 CO<sub>2</sub> 培养箱中保存组织，需要用 Eagle's 液，如果仅仅是清洗将要在细胞培养基中储存的组织，用 Hanks' 液就可以了。

### 5. NaHCO<sub>3</sub>

一般培养基中大都使用 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>/H<sup>+</sup> 作为 pH 的缓冲系统，而培养基中 NaHCO<sub>3</sub> 的含量将决定细胞培养时应使用的 CO<sub>2</sub> 浓度。当培养基中 NaHCO<sub>3</sub> 含量为每公升 3.7g 时，细胞培养时应使用 10% CO<sub>2</sub>，当培养基中 NaHCO<sub>3</sub> 为每公升 1.5g 时，则应使用 5% CO<sub>2</sub> 培养细胞。

由于大多数细胞适宜 pH 为 7.2-7.4，偏离此范围可能对细胞生长将产生有害的影响。但各种细胞对 pH 的要求也不完全相同，原代培养细胞一般对 pH 变动耐受差，无限细胞系耐受力强。但总体来说，细胞耐酸性比耐碱性强一些。

## 6. HEPES

HEPES 溶液：是一种弱酸，中文名字是羟乙基哌秦乙硫磺酸，主要作用是防止培养基 pH 迅速变动。在开放式培养条件下，观察细胞时培养基脱离了 5%CO<sub>2</sub> 的环境，CO<sub>2</sub> 气体迅速逸出，pH 迅速升高，若加了 HEPES，此时可以维持 pH7.0 左右。一般在进行克隆化培养时要添加 HEPES，神经细胞原代培养的过程中能用到。

HEPES 中的成分 EDTA 是金属阳离子螯合剂，具有抑制细胞相互粘连的作用。

## 7. NEAA：非必须氨基酸

NEAA(非必需氨基酸)是含几种非必需氨基酸的合剂，添加到的原培养基不同，NEAA 也有不同的种类，比如添加至 MEM 的 NEAA，含 L-Alanine、L-Asparagine、L-Aspartic Acid、L-Glutamic Acid、L-Glycine、L-Proline、L-Serine。

## 8. 氯化钙

氯化钙对成骨细胞培养有毒性，所以成骨细胞的培养基中应不含氯化钙。

## 11. 酚红

酚红在培养基中用作 pH 值的指示剂：中性时为红色，酸性时为黄色，碱性时为紫色。酚红本身对生物制品质量并不会产生影响，可以通过纯化技术去除，但酚红在无血清培养基可能带来胞内钠/钾失衡，影响细胞生长，当然这种作用能被血清所中和或减轻。酚红并不是培养基中必需的一种成分，很多国外的疫苗或抗体生产企业在生产过程中都使用无酚红培养基。

研究表明，酚红可以模拟固醇类激素的作用，(特别是雌激素)。为避免固醇

类反应，培养细胞，尤其是哺乳类细胞时，用不加酚红的培养基。由于酚红干扰检测，一些研究人员在做流式细胞检测时，不使用加有酚红的培养基。



CellMax俱乐部



CellMax胎牛血清

细胞培养百科全书！ 技术文章层出不穷！