



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106676053 B

(45)授权公告日 2020.08.25

(21)申请号 201611266239.9

(22)申请日 2016.12.31

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 106676053 A

(43)申请公布日 2017.05.17

(73)专利权人 山东甲骨文生物科技有限公司  
地址 255300 山东省淄博市周村区德阳路  
2901号

(72)发明人 齐智 明恒磊 孟双有 成芳硕  
孟丹丹 信健 房圆瑗 牛欣桐  
朱宁

(74)专利代理机构 淄博慧乾专利代理事务所  
(普通合伙) 37304  
代理人 任祥生

(51)Int.Cl.

C12N 5/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 101182490 A,2008.05.21,  
CN 101220347 A,2008.07.16,  
WO 2005083058 A1,2005.09.09,  
KR 20040088169 A,2004.10.16,  
WO 2007016366 A2,2007.02.08,  
CN 101195817 A,2008.06.11,  
CN 106148268 A,2016.11.23,  
CN 106244518 A,2016.12.21,

审查员 尹军团

权利要求书4页 说明书9页

(54)发明名称

一种具有广泛适应性的低血清细胞培养基  
及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种具有广泛适应性的低血清细胞培养基及其制备方法,属于生物化学技术领域,其包括如下步骤:(1)配制溶液:微量原料溶解于940~1060质量份的超纯水中,配制成溶液;(2)烘干:将步骤(1)制得的溶液与1000~4500质量份D-葡萄糖混合后烘干;(3)球磨:取其它原料与步骤(2)中烘干的混合料混匀后球磨,过100目筛,取筛下部分制得培养基。该培养基具有广泛适应性,可以适用于VERO、BHK-21、A549、ST、PK-15等多种细胞系;若细胞在培养过程中由高血清培养基转到本发明的低血清细胞培养基,则无需过渡,细胞能够迅速适应,操作简便。

1. 一种具有广泛适应性的低血清细胞培养基,其特征在於:包括以下质量份的原料:

甘氨酸: 15~20 份	L-丙氨酸: 2~6 份
L-精氨酸盐酸盐: 100~250 份	L-天冬酰胺: 5~10 份
L-天门冬氨酸: 2~8 份	L-半胱氨酸盐酸盐: 10~20 份
L-胱氨酸二盐酸盐: 20~40 份	L-谷氨酸: 5~9 份
L-组氨酸盐酸盐: 20~42 份	L-异亮氨酸: 42~57 份
L-亮氨酸: 40~75 份	L-赖氨酸盐酸盐: 80~95 份
L-甲硫氨酸: 15~20 份	L-苯丙氨酸: 30~40 份
L-脯氨酸: 15~25 份	L-丝氨酸: 25~30 份
L-苏氨酸: 50~60 份	L-色氨酸: 7~9.5 份
L-酪氨酸二钠盐: 50~65 份	L-缬氨酸: 45~60 份
抗坏血酸磷酸酯钠: 1~5 份	生物素: 0.002~0.004 份
氯化胆碱: 7.5~9 份	D-泛酸钙: 2~5 份
叶酸: 1~5 份	烟酰胺: 1~4 份
盐酸吡哆素: 1~5 份	核黄素: 0.1~0.3 份
盐酸硫胺素: 1~5 份	维生素 B12: 0.2~0.8 份
i-肌醇: 5~15 份	无水氯化钙: 100~120 份
五水硫酸铜: 0.0005~0.0015 份	九水硝酸铁: 0.02~0.06 份
七水硫酸亚铁: 0.2~0.6 份	无水氯化镁: 25~30 份
无水硫酸镁: 45~50 份	氯化钾: 250~350 份
氯化钠: 6800~7200 份	无水磷酸氢二钠: 60~75 份
一水磷酸二氢钠: 60~65 份	七水硫酸锌: 0.5~1 份
偏钒酸铵: 0.0001~0.0005 份	氯化亚锰: 0.00002~0.0001 份
亚硒酸钠: 0.002~0.007 份	还原型谷胱甘肽: 0.5~1.5 份
D-葡萄糖: 1000~4500 份	乙醇胺: 1~2 份
次黄嘌呤钠: 1~5 份	亚油酸: 1~5 份
硫辛酸: 0.05~0.12 份	苯酚红: 5~10 份
腐胺二盐酸: 0.05~0.1 份	丙酮酸钠: 90~120 份
胸苷: 0.1~0.5 份	牛血清白蛋白: 100~600 份
饱和铁牛转铁蛋白: 2~15 份	重组人胰岛素: 5~20 份。

2. 根据权利要求1所述的具有广泛适应性的低血清细胞培养基,其特征在於:原料的质

量份数为：

甘氨酸：17.5 份	L-丙氨酸：4.2 份
L-精氨酸盐酸盐：142 份	L-天冬酰胺：7.5 份
L-天门冬氨酸：7.5 份	L-半胱氨酸盐酸盐：15 份
L-胱氨酸二盐酸盐：38 份	L-谷氨酸：6.4 份
L-组氨酸盐酸盐：32 份	L-异亮氨酸：52 份
L-亮氨酸：52 份	L-赖氨酸盐酸盐：82 份
L-甲硫氨酸：17.5 份	L-苯丙氨酸：37.5 份
L-脯氨酸：20.6 份	L-丝氨酸：27.5 份
L-苏氨酸：56 份	L-色氨酸：8 份
L-酪氨酸二钠盐：54 份	L-缬氨酸：53 份
抗坏血酸磷酸酯钠：2 份	生物素：0.0035 份
氯化胆碱：8 份	D-泛酸钙：4 份
叶酸：4 份	烟酰胺：4 份
盐酸吡哆素：4 份	核黄素：0.2 份
盐酸硫胺素：4 份	维生素 B12：0.7 份
i-肌醇：10 份	无水氯化钙：115 份
五水硫酸铜：0.0012 份	九水硝酸铁：0.05 份
七水硫酸亚铁：0.5 份	无水氯化镁：28 份
无水硫酸镁：48 份	氯化钾：300 份
氯化钠：7000 份	无水磷酸氢二钠：65 份
一水磷酸二氢钠：62 份	七水硫酸锌：0.75 份
偏钒酸铵：0.0003 份	氯化亚锰：0.00006 份
亚硒酸钠：0.003 份	还原型谷胱甘肽：1 份
D-葡萄糖：3000 份	乙醇胺：2 份
次黄嘌呤钠：1 份	亚油酸：1 份
硫辛酸：0.08 份	苯酚红：8 份
腐胺二盐酸：0.06 份	丙酮酸钠：100 份
胸苷：0.3 份	牛血清白蛋白：350 份
饱和铁牛转铁蛋白：10 份	重组人胰岛素：12 份。

3. 根据权利要求1或2所述的具有广泛适应性的低血清细胞培养基,其特征在於:所述

原料为粉状原料,粉状原料的粒径大于100目。

4.一种具有广泛适应性的低血清细胞培养基的制备方法,其特征在于:包括以下步骤:

(1)配制溶液:将0.002~0.004质量份生物素、0.1~0.3质量份核黄素、0.2~0.8质量份维生素B12、0.0005~0.0015质量份五水硫酸铜、0.02~0.06质量份九水硝酸铁、0.2~0.6质量份七水硫酸亚铁、0.5~1质量份七水硫酸锌、0.0001~0.0005质量份偏钒酸铵、0.00002~0.0001质量份氯化亚锰、0.002~0.007质量份亚硒酸钠、1~2质量份乙醇胺、1~5质量份亚油酸、0.05~0.12质量份硫辛酸、0.05~0.1质量份腐胺二盐酸和0.1~0.5质量份胸苷溶解于940~1060质量份的超纯水中,配制成溶液;

(2)烘干:将步骤(1)制得的溶液与1000~4500质量份D-葡萄糖混合后烘干;

(3)球磨:按如下质量份取料混合:

甘氨酸: 15~20 份

L-丙氨酸: 2~6 份

L-精氨酸盐酸盐: 100~250 份

L-天冬酰胺: 5~10 份

L-天门冬氨酸: 2~8 份

L-半胱氨酸盐酸盐: 10~20 份

L-胱氨酸二盐酸盐: 20~40 份

L-谷氨酸: 5~9 份

L-组氨酸盐酸盐: 20~42 份

L-异亮氨酸: 42~57 份

L-亮氨酸: 40~75 份

L-赖氨酸盐酸盐: 80~95 份

L-甲硫氨酸: 15~20 份

L-苯丙氨酸: 30~40 份

L-脯氨酸: 15~25 份

L-丝氨酸: 25~30 份

L-苏氨酸: 50~60 份

L-色氨酸: 7~9.5 份

L-酪氨酸二钠盐: 50~65 份

L-缬氨酸: 45~60 份

抗坏血酸磷酸酯钠: 1~5 份

氯化胆碱: 7.5~9 份

D-泛酸钙: 2~5 份

叶酸: 1~5 份

烟酰胺: 1~4 份

盐酸吡哆素: 1~5 份

盐酸硫胺素: 1~5 份

无水氯化镁: 25~30 份

无水硫酸镁: 45~50 份

氯化钾: 250~350 份

氯化钠: 6800~7200 份

无水磷酸氢二钠: 60~75 份

一水磷酸二氢钠: 60~65 份

还原型谷胱甘肽: 0.5~1.5 份

次黄嘌呤钠: 1~5 份

苯酚红: 5~10 份

丙酮酸钠: 90~120 份

牛血清白蛋白: 100~600 份

饱和铁牛转铁蛋白: 2~15 份

重组人胰岛素: 5~20 份;

然后与步骤(2)中烘干的混合料混匀后球磨,过100目筛,取筛下部分制得培养基。

5.根据权利要求4所述的具有广泛适应性的低血清细胞培养基的制备方法,其特征在于:步骤(2)中的烘干温度为40℃,烘干时间为4~6h。

6. 根据权利要求5所述的具有广泛适应性的低血清细胞培养基的制备方法,其特征在于:步骤(3)中的球磨时间为1~3h。

7. 根据权利要求6所述的具有广泛适应性的低血清细胞培养基的制备方法,其特征在于:步骤(3)中的混匀由三维立体混合机来操作,操作时间为30~60min。

8. 根据权利要求7所述的具有广泛适应性的低血清细胞培养基的制备方法,其特征在于:封装步骤(3)中制得的培养基,在温度2~8℃下避光保存。

## 一种具有广泛适应性的低血清细胞培养基及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于生物化学技术领域,具体涉及一种具有广泛适应性的低血清细胞培养基及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 细胞培养现已广泛应用与生物学及医学基础和应用研究,也已在生物制药行业实现了大规模生产应用,是最重要的基础科学之一。

[0003] 随着生物医药的快速发展,市场上对于疫苗、单抗等生物医药制品的需求不断加大,越来越多的生物制药企业应运而生。传统细胞培养对动物血清需求量极大,而由于畜牧产业的变动,动物血清价格不断上升,加重了企业经济负担。

[0004] 低血清细胞培养基中不仅含有多种氨基酸、维生素及无机盐,还有多种微量元素及血清替代成分,可以减少血清用量,极大地降低了生产成本。血清中含有部分不利于细胞生长的成分,血清用量的降低减少了这些成分在培养基中的含量,更有利于细胞生长。

[0005] 可见,研制低血清细胞培养基更具实际意义。

### 发明内容

[0006] 本发明所要解决的技术问题是提供一种具有广泛适应性的低血清细胞培养基及其制备方法,能够为细胞提供良好的生殖环境,且减少血清用量。

[0007] 为解决上述技术问题,本发明的技术方案是:发明一种具有广泛适应性的低血清细胞培养基,其特征在于:包括以下质量份的原料:

甘氨酸: 15~20 份	L-丙氨酸: 2~6 份
L-精氨酸盐酸盐: 100~250 份	L-天冬酰胺: 5~10 份
L-天门冬氨酸: 2~8 份	L-半胱氨酸盐酸盐: 10~20 份
L-胱氨酸二盐酸盐: 20~40 份	L-谷氨酸: 5~9 份
L-组氨酸盐酸盐: 20~42 份	L-异亮氨酸: 42~57 份
[0008] L-亮氨酸: 40~75 份	L-赖氨酸盐酸盐: 80~95 份
L-甲硫氨酸: 15~20 份	L-苯丙氨酸: 30~40 份
L-脯氨酸: 15~25 份	L-丝氨酸: 25~30 份
L-苏氨酸: 50~60 份	L-色氨酸: 7~9.5 份
L-酪氨酸二钠盐: 50~65 份	L-缬氨酸: 45~60 份
抗坏血酸磷酸酯钠: 1~5 份	生物素: 0.002~0.004 份

- 氯化胆碱：7.5~9 份  
 叶酸：1~5 份  
 盐酸吡哆素：1~5 份  
 盐酸硫胺素：1~5 份  
 i-肌醇：5~15 份  
 五水硫酸铜：0.0005~0.0015 份  
 七水硫酸亚铁：0.2~0.6 份  
 无水硫酸镁：45~50 份  
 氯化钠：6800~7200 份  
 [0009] 一水磷酸二氢钠：60~65 份  
 偏钒酸铵：0.0001~0.0005 份  
 亚硒酸钠：0.002~0.007 份  
 D-葡萄糖：1000~4500 份  
 次黄嘌呤钠：1~5 份  
 硫辛酸：0.05~0.12 份  
 腐胺二盐酸：0.05~0.1 份  
 胸苷：0.1~0.5 份  
 饱和铁牛转铁蛋白：2~15 份  
 [0010] 优选的,原料的质量份数为：
- D-泛酸钙：2~5 份  
 烟酰胺：1~4 份  
 核黄素：0.1~0.3 份  
 维生素 B12：0.2~0.8 份  
 无水氯化钙：100~120 份  
 九水硝酸铁：0.02~0.06 份  
 无水氯化镁：25~30 份  
 氯化钾：250~350 份  
 无水磷酸氢二钠：60~75 份  
 七水硫酸锌：0.5~1 份  
 氯化亚锰：0.00002~0.0001 份  
 还原型谷胱甘肽：0.5~1.5 份  
 乙醇胺：1~2 份  
 亚油酸：1~5 份  
 苯酚红：5~10 份  
 丙酮酸钠：90~120 份  
 牛血清白蛋白：100~600 份  
 重组人胰岛素：5~20 份。

- 甘氨酸：17.5 份  
 L-精氨酸盐酸盐：142 份  
 L-天门冬氨酸：7.5 份  
 L-胱氨酸二盐酸盐：38 份  
 L-组氨酸盐酸盐：32 份  
 L-亮氨酸：52 份  
 L-甲硫氨酸：17.5 份  
 L-脯氨酸：20.6 份  
 L-苏氨酸：56 份  
 L-酪氨酸二钠盐：54 份  
 抗坏血酸磷酸酯钠：2 份  
 氯化胆碱：8 份  
 叶酸：4 份  
 盐酸吡哆素：4 份  
 盐酸硫胺素：4 份  
 i-肌醇：10 份  
 五水硫酸铜：0.0012 份  
 七水硫酸亚铁：0.5 份  
 无水硫酸镁：48 份  
 氯化钠：7000 份
- [0011]
- L-丙氨酸：4.2 份  
 L-天冬酰胺：7.5 份  
 L-半胱氨酸盐酸盐：15 份  
 L-谷氨酸：6.4 份  
 L-异亮氨酸：52 份  
 L-赖氨酸盐酸盐：82 份  
 L-苯丙氨酸：37.5 份  
 L-丝氨酸：27.5 份  
 L-色氨酸：8 份  
 L-缬氨酸：53 份  
 生物素：0.0035 份  
 D-泛酸钙：4 份  
 烟酰胺：4 份  
 核黄素：0.2 份  
 维生素 B12：0.7 份  
 无水氯化钙：115 份  
 九水硝酸铁：0.05 份  
 无水氯化镁：28 份  
 氯化钾：300 份  
 无水磷酸氢二钠：65 份  
 七水硫酸锌：0.75 份  
 氯化亚锰：0.00006 份  
 还原型谷胱甘肽：1 份  
 乙醇胺：2 份  
 亚油酸：1 份  
 苯酚红：8 份  
 丙酮酸钠：100 份  
 牛血清白蛋白：350 份  
 重组人胰岛素：12 份。
- [0012]
- 一水磷酸二氢钠：62 份  
 偏钒酸铵：0.0003 份  
 亚硒酸钠：0.003 份  
 D-葡萄糖：3000 份  
 次黄嘌呤钠：1 份  
 硫辛酸：0.08 份  
 腐胺二盐酸：0.06 份  
 胸苷：0.3 份  
 饱和铁牛转铁蛋白：10 份
- [0013]
- 优选的,所述原料为粉状原料,粉状原料的粒径大于100目。



[0014] 本发明还提供了一种制备上述具有广泛适应性的培养基的方法,其特征在于:包括以下步骤:

[0015] (1) 配制溶液:将0.002~0.004质量份生物素、0.1~0.3质量份核黄素、0.2~0.8质量份维生素B12、0.0005~0.0015质量份五水硫酸铜、0.02~0.06质量份九水硝酸铁、0.2~0.6质量份七水硫酸亚铁、0.5~1质量份七水硫酸锌、0.0001~0.0005质量份偏钒酸铵、0.00002~0.0001质量份氯化亚锰、0.002~0.007质量份亚硒酸钠、1~2质量份乙醇胺、1~5质量份亚油酸、0.05~0.12质量份硫辛酸、0.05~0.1质量份腐胺二盐酸和0.1~0.5质量份胸苷溶解于940~1060质量份的超纯水中,配制成溶液;

[0016] (2) 烘干:将步骤(1)制得的溶液与1000~4500质量份D-葡萄糖混合后烘干;

[0017] (3) 球磨:按如下质量份取料混合:

甘氨酸: 15~20 份	L-丙氨酸: 2~6 份
[0018] L-精氨酸盐酸盐: 100~250 份	L-天冬酰胺: 5~10 份
L-天门冬氨酸: 2~8 份	L-半胱氨酸盐酸盐: 10~20 份
L-胱氨酸二盐酸盐: 20~40 份	L-谷氨酸: 5~9 份
L-组氨酸盐酸盐: 20~42 份	L-异亮氨酸: 42~57 份
L-亮氨酸: 40~75 份	L-赖氨酸盐酸盐: 80~95 份
L-甲硫氨酸: 15~20 份	L-苯丙氨酸: 30~40 份
L-脯氨酸: 15~25 份	L-丝氨酸: 25~30 份
L-苏氨酸: 50~60 份	L-色氨酸: 7~9.5 份
L-酪氨酸二钠盐: 50~65 份	L-缬氨酸: 45~60 份
抗坏血酸磷酸酯钠: 1~5 份	氯化胆碱: 7.5~9 份
D-泛酸钙: 2~5 份	叶酸: 1~5 份
[0019] 烟酰胺: 1~4 份	盐酸吡哆素: 1~5 份
盐酸硫胺素: 1~5 份	i-肌醇: 5~15 份
无水氯化钙: 100~120 份	无水氯化镁: 25~30 份
无水硫酸镁: 45~50 份	氯化钾: 250~350 份
氯化钠: 6800~7200 份	无水磷酸氢二钠: 60~75 份
一水磷酸二氢钠: 60~65 份	还原型谷胱甘肽: 0.5~1.5 份
次黄嘌呤钠: 1~5 份	苯酚红: 5~10 份
丙酮酸钠: 90~120 份	牛血清白蛋白: 100~600 份
饱和铁牛转铁蛋白: 2~15 份	重组人胰岛素: 5~20 份;

[0020] 然后与步骤(2)中烘干的混合料混匀后球磨,过100目筛,取筛下部分制得培养基。

[0021] 优选的,步骤(2)中的烘干温度为40℃,烘干时间为4~6h。

- [0022] 优选的,步骤(3)中的球磨时间为1~3h。
- [0023] 优选的,步骤(3)中的混匀由三维立体混合机来操作,操作时间为30~60min。
- [0024] 优选的,封装步骤(3)中制得的培养基,在温度2~8℃下避光保存。
- [0025] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:
- [0026] 1、本发明的低血清细胞培养基具有广泛适应性,可以适用于VERO、BHK-21、A549、ST、PK-15等多种细胞系;若细胞在培养过程中由高血清培养基转到本发明的低血清细胞培养基,则无需过渡,细胞能够迅速适应,操作简便。
- [0027] 2、本发明的低血清细胞培养基的组份容易获得,便于降低成本,有利于细胞培养中的实际应用。
- [0028] 3、本发明的低血清细胞培养基制备方法操作简便,易于控制;且配制方式可以保证各个成分不受破坏,并使各成分分散均匀,各批次间差异小,质量稳定。
- [0029] 4、本发明的低血清细胞培养基的血清用量极小,在降低成本的同时,也降低了培养基中来自血清的有害成分的含量,细胞生长速率高于高血清培养,细胞活率不降低。

### 具体实施方式

- [0030] 下面结合具体实施方式对本发明作进一步详细描述。
- [0031] 实施例一
- [0032] 本发明制低血清细胞培养基的步骤如下:
- [0033] (1) 配制溶液:将0.0035质量份生物素、0.2质量份核黄素、0.7质量份维生素B12、0.0012质量份五水硫酸铜、0.05质量份九水硝酸铁、0.5质量份七水硫酸亚铁、0.75质量份七水硫酸锌、0.0003质量份偏钒酸铵、0.00006质量份氯化亚锰、0.003质量份亚硒酸钠、2质量份乙醇胺、1质量份亚油酸、0.08质量份硫辛酸、0.06质量份腐胺二盐酸和0.3质量份胸苷溶解于1000质量份的超纯水中,配制成溶液;
- [0034] (2) 烘干:将步骤(1)制得的溶液与3000质量份D-葡萄糖混合后烘干;
- [0035] (3) 球磨:按如下质量份取料混合:

	甘氨酸：17.5 份	L-丙氨酸：4.2 份
	L-精氨酸盐酸盐：142 份	L-天冬酰胺：7.5 份
	L-天门冬氨酸：7.5 份	L-半胱氨酸盐酸盐：15 份
	L-胱氨酸二盐酸盐：38 份	L-谷氨酸：6.4 份
	L-组氨酸盐酸盐：32 份	L-异亮氨酸：52 份
	L-亮氨酸：52 份	L-赖氨酸盐酸盐：82 份
	L-甲硫氨酸：17.5 份	L-苯丙氨酸：37.5 份
	L-脯氨酸：20.6 份	L-丝氨酸：27.5 份
	L-苏氨酸：56 份	L-色氨酸：8 份
[0036]	L-酪氨酸二钠盐：54 份	L-缬氨酸：53 份
	抗坏血酸磷酸酯钠：2 份	氯化胆碱：8 份
	D-泛酸钙：4 份	叶酸：4 份
	烟酰胺：4 份	盐酸吡哆素：4 份
	盐酸硫胺素：4 份	i-肌醇：10 份
	无水氯化钙：115 份	无水氯化镁：28 份
	无水硫酸镁：48 份	氯化钾：300 份
	氯化钠：7000 份	无水磷酸氢二钠：65 份
	一水磷酸二氢钠：62 份	还原型谷胱甘肽：1 份
	次黄嘌呤钠：1 份	苯酚红：8 份
[0037]	丙酮酸钠：100 份	牛血清白蛋白：350 份
	饱和铁牛转铁蛋白：10 份	重组人胰岛素：12 份；

[0038] 然后与步骤(2)中烘干的混合料由三维立体混合机进行混合45min,混匀后球磨,烘干温度为40℃,烘干时间为5h,球磨时间为2h,过100目筛,取筛下部分制得培养基。然后封装制得的培养基,在温度5℃下避光保存。

[0039] 实施例二

[0040] 本实施例与实施例一的不同之处在于:步骤(1)中将0.002质量份生物素、0.1质量份核黄素、0.2质量份维生素B12、0.0005质量份五水硫酸铜、0.02质量份九水硝酸铁、0.2质量份七水硫酸亚铁、0.5质量份七水硫酸锌、0.0001质量份偏钒酸铵、0.00002质量份氯化亚锰、0.002质量份亚硒酸钠、1质量份乙醇胺、3质量份亚油酸、0.05质量份硫辛酸、0.05质量份腐胺二盐酸和0.1质量份胸苷溶解于940质量份的超纯水中,配制成溶液;

[0041] 步骤(2)中,将步骤(1)制得的溶液与1000质量份D-葡萄糖混合后烘干;

[0042] 步骤(3)中,按如下质量份取料混合:

	甘氨酸：15 份	L-丙氨酸：2 份
	L-精氨酸盐酸盐：100 份	L-天冬酰胺：5 份
	L-天门冬氨酸：2 份	L-半胱氨酸盐酸盐：10 份
	L-胱氨酸二盐酸盐：20 份	L-谷氨酸：5 份
	L-组氨酸盐酸盐：20 份	L-异亮氨酸：42 份
	L-亮氨酸：40 份	L-赖氨酸盐酸盐：80 份
	L-甲硫氨酸：15 份	L-苯丙氨酸：30 份
	L-脯氨酸：15 份	L-丝氨酸：25 份
[0043]	L-苏氨酸：50 份	L-色氨酸：7 份
	L-酪氨酸二钠盐：50 份	L-缬氨酸：45 份
	抗坏血酸磷酸酯钠：1 份	氯化胆碱：7.5 份
	D-泛酸钙：2 份	叶酸：1 份
	烟酰胺：1 份	盐酸吡哆素：1 份
	盐酸硫胺素：1 份	i-肌醇：5 份
	无水氯化钙：100 份	无水氯化镁：25 份
	无水硫酸镁：45 份	氯化钾：250 份
	氯化钠：6800 份	无水磷酸氢二钠：60 份
	一水磷酸二氢钠：60 份	还原型谷胱甘肽：0.5 份
	次黄嘌呤钠：3 份	苯酚红：5 份
[0044]	丙酮酸钠：90 份	牛血清白蛋白：100 份
	饱和铁牛转铁蛋白：2 份	重组人胰岛素：5 份；

[0045] 然后与步骤(2)中烘干的混合料由三维立体混合机进行混合30min,混匀后球磨,烘干时间为4h,球磨时间为1h,在温度8℃下避光保存。

[0046] 实施例三

[0047] 本实施例与实施例一的不同之处在于:步骤(1)中将0.004质量份生物素、0.3质量份核黄素、0.8质量份维生素B12、0.0015质量份五水硫酸铜、0.06质量份九水硝酸铁、0.6质量份七水硫酸亚铁、1质量份七水硫酸锌、0.0005质量份偏钒酸铵、0.0001质量份氯化亚锰、0.007质量份亚硒酸钠、1.5质量份乙醇胺、5质量份亚油酸、0.12质量份硫辛酸、0.1质量份腐胺二盐酸盐和0.5质量份胸苷溶解于1060质量份的超纯水中,配制成溶液;

[0048] 步骤(2)中,将步骤(1)制得的溶液与4500质量份D-葡萄糖混合后烘干;

[0049] 步骤(3)中,按如下质量份取料混合:

	甘氨酸：20 份	L-丙氨酸：6 份
	L-精氨酸盐酸盐：250 份	L-天冬酰胺：10 份
	L-天门冬氨酸：8 份	L-半胱氨酸盐酸盐：20 份
	L-胱氨酸二盐酸盐：40 份	L-谷氨酸：9 份
	L-组氨酸盐酸盐：42 份	L-异亮氨酸：57 份
	L-亮氨酸：75 份	L-赖氨酸盐酸盐：95 份
	L-甲硫氨酸：20 份	L-苯丙氨酸：40 份
	L-脯氨酸：25 份	L-丝氨酸：30 份
[0050]	L-苏氨酸：60 份	L-色氨酸：9.5 份
	L-酪氨酸二钠盐：65 份	L-缬氨酸：60 份
	抗坏血酸磷酸酯钠：5 份	氯化胆碱：9 份
	D-泛酸钙：5 份	叶酸：5 份
	烟酰胺：2.5 份	盐酸吡哆素：5 份
	盐酸硫胺素：5 份	i-肌醇：15 份
	无水氯化钙：120 份	无水氯化镁：30 份
	无水硫酸镁：50 份	氯化钾：350 份
	氯化钠：7200 份	无水磷酸氢二钠：75 份
	一水磷酸二氢钠：65 份	还原型谷胱甘肽：1.5 份
	次黄嘌呤钠：5 份	苯酚红：10 份
[0051]	丙酮酸钠：120 份	牛血清白蛋白：600 份
	饱和铁牛转铁蛋白：15 份	重组人胰岛素：20 份；

[0052] 然后与步骤(2)中烘干的混合料由三维立体混合机进行混合60min,混匀后球磨,烘干时间为6h,球磨时间为3h,在温度2℃下避光保存。

[0053] 以BHK-21细胞为例,进行了对比试验,初始细胞密度为 $5 \times 10^5$ 细胞/T25,T25细胞瓶放入二氧化碳恒温培养箱,试验是在温度为37℃及5%二氧化碳条件下进行培养,48h后观察细胞形态,并计数。对比例一所用培养基为DMEM培养基+8%FBS,对比例二所用培养基为DF12+8%FBS。实验数据如下:

[0054]	序号 \ 参 数	48h 计数 (个/T25)	细胞活率 (%)
		实施例一	$4.05 \times 10^6$
	实施例二	$3.6 \times 10^6$	98.7
	实施例三	$4.15 \times 10^6$	99.4
	对比例一	$3.34 \times 10^6$	98.5
	对比例二	$3.20 \times 10^6$	97.6

[0055] 从上述试验数据可以看出本发明的低血清培养基在细胞培育方面的主要性能完全不逊色于血清培养基,甚至还要优异些,完全能够满足细胞培育的需求。

[0056] 以上所述,仅是本发明的较佳实施例而已,并非是对本发明作其它形式的限制,任何熟悉本专业的技术人员可能利用上述揭示的技术内容加以组合、变更或改型均为本发明的等效实施例。但是凡是未脱离本发明技术方案内容,依据本发明的技术实质对以上实施例所作的任何简单修改、等同变化与改型,仍属于本发明技术方案的保护范围。