



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107164328 A

(43)申请公布日 2017.09.15

(21)申请号 201710524765.9

(22)申请日 2017.06.30

(71)申请人 太仓卡斯特姆新材料有限公司

地址 215434 江苏省苏州市太仓市浮桥镇  
北环路南玖大道东A幢南铺04室

(72)发明人 李瑞清

(74)专利代理机构 苏州市方略专利代理事务所

(普通合伙) 32267

代理人 马广旭

(51) Int. Cl.

C12N 5/09(2010.01)

权利要求书1页 说明书5页

(54)发明名称

一种高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法

(57)摘要

本发明提供了一种高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,将冻存的MCF-7乳腺癌细胞冻存管从液氮或者-80℃冰箱中取出,在取出后1min内于37℃摇晃至含有MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液的MCF-7乳腺癌细胞液完全融化,将MCF-7乳腺癌细胞液加入到盛有2-3ml新鲜培养基的离心管中,用移液枪上下吹打20-30次,于1000-1500g/min的转速下离心3-10min;移去上清液,加入1-2ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基,用移液枪上下吹打40-50次,然后均匀的加入到盛有7-9ml的新鲜培养基的培养皿中,于37℃,5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

1. 一种高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,其特征在于:包括以下步骤:将冻存的MCF-7乳腺癌细胞冻存管从液氮或者-80℃冰箱中取出,在取出后1min内于37℃摇晃至含有MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液的MCF-7乳腺癌细胞液完全融化,将MCF-7乳腺癌细胞液加入到盛有2-3ml新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基的离心管中,用移液枪上下吹打20-30次,于1000-1500g/min的转速下离心3-10min;移去上清液,加入1-2ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基,用移液枪上下吹打40-50次,然后均匀的加入到盛有7-9ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基的培养皿中,于37℃,5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养;所述MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液以重量组分计,包括以下组分:二甲基亚砜5-15份、羟甲基淀粉2-5份、山梨糖3-12份、维生素C1-4份、50%高渗葡萄糖0.8-3份、丙二醇1-1.5份、(S)-(-)-1-(4-氟异喹啉-5-基)磺酰基-2-甲基-1,4-二氮环庚烷0.3-3份和基础培养基80-90份。

2. 根据权利要求1所述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,其特征在于:所述MCF-7乳腺癌细胞专用培养基包括70-90%的基础培养基以及10-30%的胎牛血清。

3. 根据权利要求1或2所述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,其特征在于:所述基础培养基以重量组分计,包括以下组分:葡萄糖 82-88份、碳酸氢钠 12-25份、丙酮酸钠 10-16份、转铁蛋白3-8份、氯化钾35-45份、无水硫酸镁 6-10份、氯化钠70-78份、氯化锂5-8份、无水磷酸二氢钠10-14份、叶酸 0.3-0.5份、肌醇0.8-1.2份、烟酰胺0.3-0.6份、无水氯化钙25-35份、硝酸铁0.2-0.4份、丁二酸6-8份、丁二酸钠12-16份、D-泛酸钙 0.3-0.6份、酒石酸胆碱0.6-0.8份、核黄素0.1-0.3份、盐酸硫胺0.2-0.4份、盐酸吡哆辛 0.3-0.5份、4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸0.3-0.6份、亚麻油1-1.5份、聚脂肪酸酯0.8-1.6份、酚红钠1-1.3份和去离子水100份。

4. 根据权利要求3所述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,其特征在于:所述基础培养基以重量组分计,还包括3-8份氨基酸,所述氨基酸以重量组分计,由以下组分组成:L-盐酸精氨酸 5-10份、L-盐酸胱氨酸 3-8份、L-丝氨酸3-6份、甘氨酸1-5份、L-盐酸组氨酸4-6份、L-异亮氨酸8-20份、L-亮氨酸7-18份、L-盐酸赖氨酸10-20份、L-甲硫氨酸1-6份、L-苯丙氨酸2-8份、L-苏氨酸5-15份、L-色氨酸1-3份、L-酪氨酸5-9份和L-缬氨酸8-12份。

5. 根据权利要求4所述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,其特征在于:所述基础培养基以重量组分计,还包括2-5份辅助因子,所述辅助因子以重量组分计,由以下组分组成:胰岛素生长因子3-8份、白介素6 2-5份、白介素10 1-4份、白介素12 3-6份、TNF-β2-10份、GM-CSF1-5份。

6. 根据权利要求5所述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,其特征在于:所述基础培养基以重量组分计,还包括0.006份青霉素和0.01份的链霉素。

7. 根据权利要求6所述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,其特征在于:所述青霉素选自10000U/ml,所述链霉素选自10000μg/ml。

## 一种高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于生物技术应用领域,具体地,涉及一种高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法。

### 背景技术

[0002] 乳腺癌是女性最常见的癌症,主要包括导管癌和小叶癌。2016年美国CA(A Cancer Journal for Clinicians)公布的最新统计数据显示,美国2016年预计将有420840例女性患乳腺癌,占女性新发恶性肿瘤的38%,居女性恶性肿瘤发病率第一位,并且死亡人数将达52930例。更为严重的是全球的乳腺癌发病率正在逐年增长。

[0003] 细胞培养是生物与健康相关研究领域的一项重要技术。随着生命科学的迅速发展,目前细胞培养已成为细胞生物学、分子生物学、遗传学和免疫学等学科研究的重要基础。为了深入探讨细胞的生长活动规律、有关疾病的病理和药物的药理(毒理)机制,开发具有不同针对性的细胞培养方法具有重要意义。

[0004] 其中,MCF-7乳腺癌细胞作为人源性高转移乳腺癌细胞,常用于乳腺癌的体内外研究。细胞培养基是培养细胞的营养物质,是生命及再生医学领域中广泛应用的关键技术。尤其随着细胞治疗个性化技术的兴起,体外扩增特殊功效的细胞成了临床前研究以及临床治疗的重点研发项目。

[0005] 本发明的方便快捷的MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,应用方便,稳定性好,复苏后的MCF-7细胞去除了冻存液的影响,生长速度快,细胞状态好,边界清晰,可以方便应用于乳腺癌的原位生长、血管生成以及与其他乳腺癌高转移性细胞进行对比研究等的相关研究。

### 发明内容

[0006] 发明目的:本发明提供了一种高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法。

[0007] 技术方案:本发明提供了一种高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,包括以下步骤:将冻存的MCF-7乳腺癌细胞冻存管从液氮或者-80℃冰箱中取出,在取出后1min内于37℃摇晃至含有MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液的MCF-7乳腺癌细胞液完全融化,将MCF-7乳腺癌细胞液加入到盛有2-3ml新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基的离心管中,用移液枪上下吹打20-30次,于1000-1500g/min的转速下离心3-10min;移去上清液,加入1-2ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基,用移液枪上下吹打40-50次,然后均匀的加入到盛有7-9ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基的培养皿中,于37℃,5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养;所述MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液以重量组分计,包括以下组分:二甲基亚砜5-15份、羟甲基淀粉2-5份、山梨糖3-12份、维生素C1-4份、50%高渗葡萄糖0.8-3份、丙二醇1-1.5份、(S)-(-)-1-(4-氟异喹啉-5-基)磺酰基-2-甲基-1,4-二氮环庚烷0.3-3份和基础培养基80-90份。本发明所述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,应用方便,稳定性好,复苏后的MCF-7细胞去除了冻存液的影响,细胞生长速度快,细胞状态好,边界清晰,可以方便应用于乳腺癌的原位生长、血管生成以及与其他乳腺癌高转移性细胞进行对比研究等的相关研究。其中,50%高渗葡萄糖

为渗透性保护液,而(S)-(-)-1-(4-氟异喹啉-5-基)磺酰基-2-甲基-1,4-二氮环庚烷则抑制细胞活动和基因表达,维生素C的抗氧化性好,在保证休眠细胞的营养的同时还可以显著减少对细胞的损伤,提高冻存细胞的存活率,并且在增殖方面也保持很好的状态。

[0008] 进一步的,上述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,所述MCF-7乳腺癌细胞专用培养基包括70-90%的基础培养基以及10-30%的胎牛血清。MCF-7乳腺癌细胞专用培养基,组分合理,可以进一步为复苏的细胞提供营养物质。

[0009] 进一步的,上述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,所述基础培养基以重量组分计,包括以下组分:葡萄糖 82-88份、碳酸氢钠 12-25份、丙酮酸钠10-16份、转铁蛋白 3-8份、氯化钾35-45份、无水硫酸镁 6-10份、氯化钠70-78份、氯化锂5-8份、无水磷酸二氢钠10-14份、叶酸 0.3-0.5份、肌醇0.8-1.2份、烟酰胺0.3-0.6份、无水氯化钙25-35份、硝酸铁0.2-0.4份、丁二酸6-8份、丁二酸钠12-16份、D-泛酸钙 0.3-0.6份、酒石酸胆碱0.6-0.8份、核黄素0.1-0.3份、盐酸硫胺0.2-0.4份、盐酸吡哆辛 0.3-0.5份、4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸0.3-0.6份、亚麻油1-1.5份、聚脂肪酸酯0.8-1.6份、酚红钠1-1.3份和去离子水100份。

[0010] 进一步的,上述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,所述基础培养基以重量组分计,还包括3-8份氨基酸,所述氨基酸以重量组分计,由以下组分组成:L-盐酸精氨酸 5-10份、L-盐酸胱氨酸 3-8份、L-丝氨酸3-6份、甘氨酸1-5份、L-盐酸组氨酸 4-6份、L-异亮氨酸8-20份、L-亮氨酸7-18份、L-盐酸赖氨酸10-20份、L-甲硫氨酸1-6份、L-苯丙氨酸2-8份、L-苏氨酸5-15份、L-色氨酸1-3份、L-酪氨酸5-9份和L-缬氨酸8-12份。

[0011] 进一步的,上述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,所述基础培养基以重量组分计,还包括2-5份辅助因子,所述辅助因子以重量组分计,由以下组分组成:胰岛素生长因子3-8份、白介素6 2-5份、白介素10 1-4份、白介素12 3-6份、TNF-β2-10份、GM-CSF1-5份。基础培养基组分合理,营养丰富,可以提高MCF-7乳腺癌细胞复苏后生长的营养物质,MCF-7细胞生长速度快,细胞状态好,边界清晰,镜下观察透亮、分裂相更多、形态及分散度佳,可以有利于乳腺癌转移的相关研究。

[0012] 进一步的,上述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,所述基础培养基以重量组分计,还包括0.006份青霉素和0.01份的链霉素。可以有效防止复苏的细胞被污染。

[0013] 进一步的,上述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,所述青霉素选自10000U/ml,所述链霉素选自10000μg/ml。青霉素和链霉素活性好,效果佳。

[0014] 有益效果:本发明所述的高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,应用方便,稳定性好,复苏后的MCF-7细胞去除了冻存液的影响,细胞生长速度快,细胞状态好,边界清晰,可以方便应用于乳腺癌的原位生长、血管生成以及与其他乳腺癌高转移性细胞进行对比研究等的相关研究。

## 具体实施方式

[0015] 下面将通过几个具体实施例,进一步阐明本发明,这些实施例只是为了说明问题,并不是一种限制。

### [0016] 实施例1

一种高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,包括以下步骤:将冻存的MCF-7乳腺癌细

胞冻存管从液氮或者-80℃冰箱中取出,在取出后1min内于37℃摇晃至含有MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液的MCF-7乳腺癌细胞液完全融化,将MCF-7乳腺癌细胞液加入到盛有2ml新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基的离心管中,用移液枪上下吹打20次,于1000g/min的转速下离心10min;移去上清液,加入1ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基,用移液枪上下吹打40次,然后均匀的加入到盛有7ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基的培养皿中,于37℃,5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

[0017] 其中,所述MCF-7乳腺癌细胞专用培养基包括70%的基础培养基以及30%的胎牛血清。此外,所述MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液以重量组分计,包括以下组分:二甲基亚砷5份、羟甲基淀粉2份、山梨糖3份、维生素C1份、50%高渗葡萄糖0.8份、丙二醇1份、(S)-(-)-1-(4-氟异喹啉-5-基)磺酰基-2-甲基-1,4-二氮环庚烷0.3份和基础培养基80份。

[0018] 其中,所述基础培养基以重量组分计,包括以下组分:葡萄糖 82份、碳酸氢钠 12份、丙酮酸钠10份、转铁蛋白3份、氯化钾35份、无水硫酸镁 6份、氯化钠70份、氯化锂5份、无水磷酸二氢钠10份、叶酸 0.3份、肌醇0.8份、烟酰胺0.3份、无水氯化钙25份、硝酸铁0.2份、丁二酸6份、丁二酸钠12份、D-泛酸钙 0.3份、酒石酸胆碱0.6份、核黄素0.1份、盐酸硫胺0.2份、盐酸吡哆辛 0.3份、4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸0.3份、亚麻油1份、聚脂肪酸酯0.8份、酚红钠1份和去离子水100份。

[0019] 另,所述基础培养基还包括3份氨基酸,所述氨基酸以重量组分计,由以下组分组成:L-盐酸精氨酸 5份、L-盐酸胱氨酸 3份、L-丝氨酸3份、甘氨酸1份、L-盐酸组氨酸 4份、L-异亮氨酸8份、L-亮氨酸7份、L-盐酸赖氨酸10份、L-甲硫氨酸1份、L-苯丙氨酸2份、L-苏氨酸5份、L-色氨酸1份、L-酪氨酸5份和L-缬氨酸8份。

[0020] 再,所述基础培养基还包括2份辅助因子,所述辅助因子以重量组分计,由以下组分组成:胰岛素生长因子3份、白介素6 2份、白介素10 1份、白介素12 3份、TNF-β2份、GM-CSF 1份。

[0021] 此外,所述基础培养基以重量组分计,还包括0.006份青霉素和0.01份的链霉素。并且,所述青霉素选自10000U/ml,所述链霉素选自10000μg/ml。

[0022]

### 实施例2

一种高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,包括以下步骤:将冻存的MCF-7乳腺癌细胞冻存管从液氮或者-80℃冰箱中取出,在取出后1min内于37℃摇晃至含有MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液的MCF-7乳腺癌细胞液完全融化,将MCF-7乳腺癌细胞液加入到盛有3ml新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基的离心管中,用移液枪上下吹打30次,于1500g/min的转速下离心3min;移去上清液,加入2ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基,用移液枪上下吹打50次,然后均匀的加入到盛有9ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基的培养皿中,于37℃,5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

[0023] 其中,所述MCF-7乳腺癌细胞专用培养基包括90%的基础培养基以及10%的胎牛血清。此外,所述MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液以重量组分计,包括以下组分:二甲基亚砷15份、羟甲基淀粉5份、山梨糖12份、维生素C4份、50%高渗葡萄糖3份、丙二醇1.5份、(S)-(-)-1-(4-氟异喹啉-5-基)磺酰基-2-甲基-1,4-二氮环庚烷3份和基础培养基90份。

[0024] 其中,所述基础培养基以重量组分计,包括以下组分:葡萄糖 88份、碳酸氢钠 25

份、丙酮酸钠16份、转铁蛋白8份、氯化钾45份、无水硫酸镁10份、氯化钠78份、氯化锂8份、无水磷酸二氢钠14份、叶酸 0.5份、肌醇1.2份、烟酰胺0.6份、无水氯化钙35份、硝酸铁0.4份、丁二酸8份、丁二酸钠16份、D-泛酸钙 0.6份、酒石酸胆碱0.8份、核黄素0.3份、盐酸硫胺0.4份、盐酸吡哆辛 0.5份、4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸0.6份、亚麻油1.5份、聚脂肪酸酯1.6份、酚红钠1.3份和去离子水100份。

[0025] 另,所述基础培养基还包括8份氨基酸,所述氨基酸以重量组分计,由以下组分组成:L-盐酸精氨酸 10份、L-盐酸胱氨酸 8份、L-丝氨酸6份、甘氨酸5份、L-盐酸组氨酸 6份、L-异亮氨酸20份、L-亮氨酸18份、L-盐酸赖氨酸20份、L-甲硫氨酸6份、L-苯丙氨酸8份、L-苏氨酸15份、L-色氨酸3份、L-酪氨酸9份和L-缬氨酸12份。

[0026] 再,所述基础培养基还包括5份辅助因子,所述辅助因子以重量组分计,由以下组分组成:胰岛素生长因子8份、白介素6 5份、白介素10 4份、白介素12 6份、TNF- $\beta$ 10份、GM-CSF 5份。

[0027] 此外,所述基础培养基以重量组分计,还包括0.006份青霉素和0.01份的链霉素。并且,所述青霉素选自10000U/ml,所述链霉素选自10000 $\mu$ g/ml。

[0028]

### 实施例3

一种高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,包括以下步骤:将冻存的MCF-7乳腺癌细胞冻存管从液氮或者-80 $^{\circ}$ C冰箱中取出,在取出后1min内于37 $^{\circ}$ C摇晃至含有MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液的MCF-7乳腺癌细胞液完全融化,将MCF-7乳腺癌细胞液加入到盛有3ml新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基的离心管中,用移液枪上下吹打25次,于1200g/min的转速下离心8min;移去上清液,加入1ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基,用移液枪上下吹打45次,然后均匀的加入到盛有8ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基的培养皿中,于37 $^{\circ}$ C,5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

[0029] 其中,所述MCF-7乳腺癌细胞专用培养基包括80%的基础培养基以及20%的胎牛血清。此外,所述MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液以重量组分计,包括以下组分:二甲基亚砷12份、羟甲基淀粉3份、山梨糖8份、维生素C2份、50%高渗葡萄糖2份、丙二醇1.2份、(S)-(-)-1-(4-氟异喹啉-5-基)磺酰基-2-甲基-1,4-二氮环庚烷0.3-3份和基础培养基85份。

[0030] 其中,所述基础培养基以重量组分计,包括以下组分:葡萄糖 86份、碳酸氢钠 18份、丙酮酸钠12份、转铁蛋白6份、氯化钾40份、无水硫酸镁8份、氯化钠75份、氯化锂6份、无水磷酸二氢钠12份、叶酸 0.4份、肌醇1份、烟酰胺0.5份、无水氯化钙30份、硝酸铁0.3份、丁二酸7份、丁二酸钠14份、D-泛酸钙 0.5份、酒石酸胆碱0.7份、核黄素0.2份、盐酸硫胺0.3份、盐酸吡哆辛 0.4份、4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸0.5份、亚麻油1.2份、聚脂肪酸酯1.2份、酚红钠1.2份和去离子水100份。

[0031] 另,所述基础培养基还包括5份氨基酸,所述氨基酸以重量组分计,由以下组分组成:L-盐酸精氨酸 8份、L-盐酸胱氨酸 6份、L-丝氨酸5份、甘氨酸4份、L-盐酸组氨酸5份、L-异亮氨酸12份、L-亮氨酸10份、L-盐酸赖氨酸16份、L-甲硫氨酸3份、L-苯丙氨酸6份、L-苏氨酸9份、L-色氨酸2份、L-酪氨酸6份和L-缬氨酸10份。

[0032] 再,所述基础培养基还包括3份辅助因子,所述辅助因子以重量组分计,由以下组分组成:胰岛素生长因子4份、白介素6 4份、白介素10 3份、白介素12 5份、TNF- $\beta$ 8份、GM-

CSF3份。

[0033] 此外,所述基础培养基以重量组分计,还包括0.006份青霉素和0.01份的链霉素。并且,所述青霉素选自10000U/ml,所述链霉素选自10000 $\mu$ g/ml。

[0034]

#### 实施例4

一种高稳定性MCF-7乳腺癌细胞的复苏方法,包括以下步骤:将冻存的MCF-7乳腺癌细胞冻存管从液氮或者-80 $^{\circ}$ C冰箱中取出,在取出后1min内于37 $^{\circ}$ C摇晃至含有MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液的MCF-7乳腺癌细胞液完全融化,将MCF-7乳腺癌细胞液加入到盛有3ml新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基的离心管中,用移液枪上下吹打20次,于1000-1500g/min的转速下离心5min;移去上清液,加入2ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基,用移液枪上下吹打45次,然后均匀的加入到盛有8ml的新鲜MCF-7乳腺癌细胞专用培养基的培养皿中,于37 $^{\circ}$ C,5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

[0035] 其中,所述MCF-7乳腺癌细胞专用培养基包括70-90%的基础培养基以及25%的胎牛血清。此外,所述MCF-7乳腺癌细胞专用冻存液以重量组分计,包括以下组分:二甲基亚砜5份、羟甲基淀粉2份、山梨糖12份、维生素C4份、50%高渗葡萄糖2份、丙二醇1.2份、(S)-(-)-1-(4-氟异喹啉-5-基)磺酰基-2-甲基-1,4-二氮环庚烷1.5份和基础培养基90份。

[0036] 其中,所述基础培养基以重量组分计,包括以下组分:葡萄糖 82份、碳酸氢钠 25份、丙酮酸钠16份、转铁蛋白5份、氯化钾40份、无水硫酸镁 6份、氯化钠78份、氯化锂6份、无水磷酸二氢钠12份、叶酸 0.4份、肌醇1.2份、烟酰胺0.3份、无水氯化钙28份、硝酸铁0.2份、丁二酸8份、丁二酸钠12份、D-泛酸钙 0.6份、酒石酸胆碱0.8份、核黄素0.1份、盐酸硫胺0.4份、盐酸吡哆辛 0.3份、4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸0.6份、亚麻油1.2份、聚脂肪酸酯0.8份、酚红钠1.3份和去离子水100份。

[0037] 另,所述基础培养基还包括5份氨基酸,所述氨基酸以重量组分计,由以下组分组成:L-盐酸精氨酸 5份、L-盐酸胱氨酸 8份、L-丝氨酸3份、甘氨酸4份、L-盐酸组氨酸 5份、L-异亮氨酸12份、L-亮氨酸7份、L-盐酸赖氨酸10份、L-甲硫氨酸6份、L-苯丙氨酸8份、L-苏氨酸9份、L-色氨酸2份、L-酪氨酸8份和L-缬氨酸8份。

[0038] 再,所述基础培养基还包括2份辅助因子,所述辅助因子以重量组分计,由以下组分组成:胰岛素生长因子3份、白介素6 5份、白介素10 3份、白介素12 5份、TNF- $\beta$ 8份、GM-CSF5份。

[0039] 此外,所述基础培养基以重量组分计,还包括0.006份青霉素和0.01份的链霉素。并且,所述青霉素选自10000U/ml,所述链霉素选自10000 $\mu$ g/ml。

[0040] 以上所述仅是发明的几个实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离发明原理的前提下,还可以做出若干改进,这些改进也应视为本发明的保护范围。