

CoP การเพาะเลี้ยงไวรัสโดยเซลล์

จุดประสงค์

เพื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ไตสุกร FS-L3 ใช้สำหรับการผลิตไวรัสสอหิวาต์สุกร สเตรนไซนิส สำหรับกระบวนการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรผ่านเซลล์เพาะเลี้ยง

เซลล์ FS-L3

เป็นเซลล์ที่ถูกพัฒนาให้มีการเพาะเลี้ยงได้โดยไม่ต้องใช้ซีรัมในอาหารเลี้ยงเซลล์ (Growth Medium, GM) ซึ่งมีส่วนประกอบ ดังนี้

- Eagle's minimum essential medium (MEM)
- Tryptose phosphate broth (TPB) 0.295%
- Bacto peptone (BP) 0.5%
- N,N-Bis (2-Hydroxyethyl)-2-aminoethanesulfonic acid (BES) 10 mM
- L-glutamine 0.292 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
- Sodium bicarbonate 2.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
- pH 7.2

วิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์

1. นำเซลล์ออกจากถังลิขวิดไนโตรเจน ละลายเร็วในน้ำเย็น
2. ดูดเซลล์ใส่ในหลอดพลาสติกที่มี GM แล้วดูดเป่าให้เซลล์แยกเป็นเซลล์เดี่ยว
3. ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1,500 รอบ/นาที นาน 5 นาที
4. เทส่วนใสทิ้ง เติม GM 10 มิลลิลิตร และดูดเป่าให้เซลล์แยกเป็นเซลล์เดี่ยว
5. ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1,500 รอบ/นาที นาน 5 นาที
6. ทำซ้ำข้อ 4 และดูดเซลล์ใส่ขวดพลาสติกเพาะเลี้ยงเซลล์พื้นที่ 225 ตารางเซนติเมตร และเติม GM ให้ครบ 100 มิลลิลิตร เขียนระบุชื่อเซลล์ วันที่เพาะเลี้ยง passage ที่ขวดให้ชัดเจน
7. บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5-7 วัน จึงนำเซลล์มาใช้งานได้

