

ExCell Bio

OptiVitro[®] CHO 无血清基础培养基 CE02

说明书

本品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗

User Manual

Catalog Number CE000-N041

CE000-N042

CE000-N043

CE000-N044

CE000-N045



简介

OptiVibro® CHO 无血清基础培养基 CE02 是不含有任何动物性来源成分的、化学成分明确的培养基 (Chemically Defined Medium)，适用于 CHO-K1，CHOZN 以及 CHO-S 等细胞的高密度培养以及重组蛋白的高水平表达。

产品	货号	规格	保存	保质期
CHO 无血清基础培养基 CE02	CE000-N041	500 mL 液体	2-8℃，避光	12 个月
	CE000-N042	1 L 液体		
	CE000-N043	1 L 粉体	2-8℃，干燥、 避光	24 个月
	CE000-N044	10 L 粉体		
	CE000-N045	100 L 粉体		

培养条件

建议摇床培养条件，温度：37℃；相对湿度：80%，CO₂ 浓度：5%，摇床转速：120-150rpm。

配制方法

- 1、以配制 1L 液体培养基为例，取洁净的配制容器，加入最终配制体积 80% 的注射用水；
- 2、称量干粉培养基 21.12g，缓慢加入水中，搅拌 20 分钟；
- 3、缓慢加入 6N HCl 溶液（约 5.7ml），调节 pH 至 2.4-2.5 后，搅拌 10 分钟；
- 4、缓慢加入 5N NaOH 溶液（约 7.6ml），调节 pH 至 6.0-6.1 后，搅拌 30 分钟；
- 5、加入碳酸氢钠 2.2g，搅拌 15 分钟；
- 6、加入注射用水并定容至 1L，继续搅拌 5 分钟；
- 7、测量 pH、渗透压，pH 应为 6.90-7.50，渗透压应为 280-310 mOsm/kg；
- 8、0.22μm 滤膜除菌过滤后，2-8℃ 避光保存。

I 细胞驯化

大部分稳定细胞株可由无血清培养基直接更换为 OptiVibro® CHO 无血清基础培养基 CE02 培养，建议先试用直接适应方案，如果细胞无法适应，再进行渐进式驯化。

部分无血清培养基（SFM）通常会含有蛋白水解物或生长因子等成分，培养于该类型培养基中的细胞有可能会对各种生长因子产生依赖，因此有些培养于无血清培养基中细胞株更换至 CD 培养基如 OptiVibro® CHO 无血清基础培养基 CE02 培养时，需要进行适应性驯化。

1、直接适应法

细胞复苏: 将待驯化的细胞用原培养基复苏（通常 125mL 摇瓶 15-30mL 培养体积），传代至生长稳定（约 3 代），驯化时细胞活率应大于 90%。

更换培养基: 将细胞离心换液至 100% OptiVibro® CHO 无血清基础培养基 CE02 中，接种密度 $0.3-0.8 \times 10^6/\text{mL}$ ，培养条件 37°C ，5% CO_2 ，120-150rpm，125mL 摇瓶，培养体积 30~40mL（可根据已有工艺或培养方法适当调整）。若使用不带透气膜的螺口摇瓶，应将瓶盖稍微拧松，以保障通气。

2、渐进式适应法

对于部分不能直接适应 CE02 培养基的细胞株，需要通过渐进式适应法驯化。渐进式驯化实验中，新旧培养基的比例可以适当调整。

细胞复苏: 将待驯化的细胞用原培养基复苏（通常 125mL 摇瓶 15-30mL 培养体积），传代至生长稳定（约 3 代），驯化时细胞活率应大于 90%。

更换培养基: 本培养基推荐如下驯化方法：利用新旧培养基混合液进行细胞传代，原培养基与 OptiVibro® CHO 无血清基础培养基 CE02 的比例可按 50%/50%，25%/75%，10%/90%，5%/95%，0%/100% 的顺序递变。建议每步至少 2 次传代，以确保细胞适当适应新培养基。大部分细胞株的渐进式适应可直接从 25%/75% 或 10%/90% 开始，根据细胞适应难易程度，可适当跳过某些比例或增加某些比例，例如 5%/95% 后增加 2%/98%，1%/99%。细胞接种密度为 $0.3-0.8 \times 10^6/\text{mL}$ ，培养条件 37°C ，5-8% CO_2 ，120-150rpm（可根据已有驯化方法适当调整）。若使用不带透气膜的螺口摇瓶，应将瓶盖稍微拧松，以保障通气。如已有成熟的细胞适应培养基的驯化方法，可做适当调整。

3、细胞传代和建库

当细胞经过驯化，完全适应新的培养基后，根据细胞生长情况，每 2-4 天传一次代，活细胞密度达到 $2.0-3.0 \times 10^6/\text{mL}$ 时即可进行传代。此时，亦可建立细胞库和开始培养基评价实验。

备注：当培养基适应驯化完成后，可恢复原有的接种密度和传代操作！

| 细胞冻存

- 1、准备对数期的细胞，保证细胞活率大于 90%；
- 2、准备细胞冻存液，92%的 CHO 无血清培养基 CE02，加入 8%的 DMSO（现用现配），也可直接使用本公司的无血清细胞冻存液 UC04（货号：UC000-N056），无需额外添加 DMSO；
- 3、将准备好的细胞悬液离心处理，转速 1200rpm，时间 5 分钟；
- 4、将准备的冻存液重悬细胞，根据需求冻存所需数量（建议： $1-2 \times 10^7/\text{mL}$ ）；
- 5、用程序降温冻存盒冻存，放置于 -80°C 冰箱，过夜后，及时放入液氮保存。

| 批培养建议

为了获得更优的细胞培养性能，建议搭配本公司补料培养基 CA01 α （货号：CA000-N011）和补料培养基 CA01 β （货号：CA000-N021）使用。