

# ExCell Bio

## OptiVitro<sup>®</sup> CHO 无血清基础培养基 CE01

### 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-N031

CE000-N032

CE000-N033

CE000-N034

CE000-N035



## I 简介

CHO 无血清基础培养基 CE01 是不含有任何动物性来源成分的、无蛋白的、化学成分明确的培养基 (Chemically Defined Medium) , 适用于 CHO-K1, CHO-DG44 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 CE01	CE000-N031	500 mL 液体	2-8℃, 避光	12 个月
	CE000-N032	1 L 液体		
	CE000-N033	1 L 粉体	2-8℃, 干燥、 避光	24 个月
	CE000-N034	10 L 粉体		
	CE000-N035	100 L 粉体		

## I 培养条件

建议摇床培养条件, 温度: 37℃; 相对湿度: 80%, CO<sub>2</sub> 浓度: 5% , 摇床转速: 120-150rpm。

## I 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 22.15g, 缓慢加入水中, 搅拌 30 分钟;
- 3、缓慢加入 5N NaOH 溶液, 调节 pH 至 8.5 后, 搅拌 10 分钟;
- 4、缓慢加入 6N HCl, 调节 pH 至 7.0 后, 搅拌 5 分钟;
- 5、加入碳酸氢钠 2.317g, 搅拌 10 分钟;
- 6、加入注射用水并定容至 1L, 继续搅拌 5 分钟;
- 7、取样测量 pH 和渗透压, pH 应为 6.90-7.50, 渗透压应为 270-300 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 CE01 培养基培养，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 95%。

**更换培养基:** 将细胞离心换液至 100%新培养基中，接种密度  $0.3-0.8 \times 10^6/\text{mL}$ ，培养条件  $37^\circ\text{C}$ ，5-8%  $\text{CO}_2$ ，120-140rpm，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 CE01 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 95%。

**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 CD 培养基的比例可按 50%/50%，25%/75%，10%/90%，5%/95%，0%/100% 的顺序递变。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  $37^\circ\text{C}$ ，5-8%  $\text{CO}_2$ ，130-150rpm（可根据已有驯化方法适当调整）。若使用螺口摇瓶，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！

## I 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，90%的 CE01 基础培养基，加入 10%的 DMSO（现用现配）；
- 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 $-80^\circ\text{C}$ 冰箱，过夜后，及时放入液氮保存。

## I 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 CHO 补料培养基 CA01 $\alpha$  (CA000-N011) 和 CHO 补料培养基 CA01 $\beta$  (CA000-N021) 使用。