

# CHOGrow® CD 瞬转无血清培养基



源培·培源  
BasalMedia

货号	品名	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
H170KJ	CHOGrow® CD 瞬转无血清培养基	500 mL	12 个月	液体	2 ~ 8 °C	蓝冰

## 1. 产品描述

CHOGrow® CD 瞬转无血清培养基是一种限定化学成分的无血清且无动物来源的培养基，适用于高密度悬浮培养 CHO 细胞以及瞬时转染表达蛋白。CHOGrow® CD 瞬转无血清培养基兼容转染，可直接配合市售的各类阳离子转染试剂使用。CHOGrow® CD 瞬转无血清培养基预添加了 L-谷氨酰胺，可直接使用，无需额外的添加剂。

### 本产品关注点

含有 ( + )

- 6.0 g/L D-葡萄糖
- L-谷氨酰胺
- 碳酸氢钠
- 酚红

本产品使用注射用水 ( Water-For-Injection ) 配置。

## 2. 企业质量体系

上海源培生物科技股份有限公司的产品是在 cGMP 标准车间中生产的。

上海源培生物科技股份有限公司已取得 ISO9001:2015、ISO13485:2016 质量体系认证。

## 3. 产品参数

本产品为过滤除菌产品

物理外观：红色澄清液体

内毒素：≤3 EU/mL

渗透压：270 ~ 340 mOsm/kg·H<sub>2</sub>O

pH 值：7.0 ~ 7.4

储藏条件：2~8 °C

运输条件：蓝冰

用途：仅供科研和生产使用

## 4. 使用指南

使用时请穿着合适的安全手套、实验服和护目镜。

产品不能用于人体。

细胞直接接触的环境应是无菌的，直接作用于细胞的试剂必须是无菌的。

请在无菌环境中进行细胞实验，任何器皿或工具，移入无菌环境之前，应在入口处移去外包装膜或者使用酒精擦拭进行消毒。

注意：产品收到时已完全融化，或者超过有效期的情况下，请勿使用。

注意：在运输或储存 ( 有效期内 ) 过程中某一温度下，如发现澄清度减小的情况，此为某些蛋白成分的析出，在使用前混匀即可，不影响细胞培养效果。

## 5. 制备培养基

以制备 500 mL 完全的 CHOGrow® CD 瞬转无血清培养基为例：

1. CHOGrow® CD 瞬转无血清培养基预添加了 L-谷氨酰胺，可直接使用，无需额外的添加剂。
2. 进行 CHO 细胞悬浮培养时，一般无需加入抗结团试剂，当细胞结团严重时，则可适量加入细胞抗结团试剂 ( 如需用阳离子脂质体转染试剂进行转染请先重点阅读注意事项中的相关描述 ) 。
3. 不推荐使用抗生素。
4. 无需额外加入表面活性剂，如 F-68。
5. 培养基准备完全后，请在 2 ~ 8 °C 下避光保存，并尽快使用完毕。

注意：当发生任何培养基品种替换时，细胞至少需要在新培养基中传代 3 次，才能进行其他实验或应用。

## 6. 细胞培养的条件

培养基：CHOGrow® CD 瞬转无血清培养基

细胞系：CHO 细胞

细胞类型：悬浮细胞

培养容器和设备：摇瓶、转瓶、生物反应器或 CO<sub>2</sub> 恒温培养箱 ( 配摇床或转瓶机 )

培养条件：36 ~ 38 °C，CO<sub>2</sub> 含量 8 % 的湿润空气 ( 部分细胞系 CO<sub>2</sub> 仅需要 5 % )，避光。

实验前应对细胞培养仪器进行温度和气体环境的设置。

## 7. 细胞复苏

以—管冻存细胞体积 1.5 mL，活细胞密度  $0.5 \times 10^7 \sim 1 \times 10^7$  个/mL 为例：

1. 准备无菌的离心管，在离心管中加入 6 ~ 8 mL 预热的完全培养基，然后立刻开始冻存细胞的解冻；
2. 在 37 °C 水浴中，迅速 ( < 1 分钟 ) 解冻—管冻存细胞。当最后一丝冰融化时，迅速从水浴中移出细胞冻存管；
3. 轻轻吸出管中内容物，并转移到第 1 步预先准备好的锥形瓶中，以 1000 rpm，离心 3 min；
4. 用完全培养基重悬细胞，加入到培养容器中，设置转速 120~140 rpm，进行细胞培养；
5. 细胞复苏 3 ~ 5 天后，挑选对数生长期的细胞进行传代；推荐以  $3 \times 10^5$  个/mL 的活细胞密度进行传代，传代 3 次后再进行细胞应用。

注意：由于复苏的细胞非常脆弱，一般无需离心去除 DMSO。

## 8. 细胞传代

推荐在细胞传代 30 次或者持续 3 个月以上时,复苏新的冻存细胞进行传代。

推荐当细胞满足以下条件时进行传代:

- ① 对数生长期;
- ② 细胞活率大于 90 %
- ③ 活细胞密度达到  $\sim 2 \times 10^6$  个/mL。

传代步骤:

1. 离心收集细胞 (100 × g, 5 ~ 10 分钟);
2. 使用少量预热培养基重悬细胞, 进行细胞计数, 确定细胞活率, 计算活细胞密度;
3. 在无菌的培养容器 (125 mL 锥形瓶) 中加入合适体积的预热的完全培养基; 然后立即以  $3 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$  个/mL 的最终活细胞密度, 把细胞接种入锥形瓶中;
4. 将锥形瓶放到摇床中, 设置转速 120 ~ 140 rpm, 进行培养;
5. 当活细胞密度达到  $2 \times 10^6$  个/mL 时, 可以进行传代;

注意: 悬浮细胞传代过程最好使用上面推荐的步骤, 也可以不离心, 直接细胞计数然后添加预热的新培养基分瓶培养。但是为减少细胞代谢物和碎片在培养基中的积累而影响细胞活性, 每 1 ~ 2 周应该彻底更换一次培养基。

如果距复苏或者上次传代已满 5 天, 活细胞密度仍然不达标, 请彻底更换培养基, 或者复苏新的冻存细胞。

## 9. 细胞冻存

## 10. 相关产品

货号	品名	规格	存储条件	运输条件
H470JV	CellTurbo® CHO 瞬转表达用补料, 25 ~ 100X	100 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
S490J7	抗细胞结团剂	10 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
S919JV	CD-Freezer® 化学成分限定细胞冻存液	100 mL	2 ~ 8 °C	蓝冰
B210KJ	Dulbecco's 磷酸盐缓冲液 (DPBS), 不含钙、镁离子和酚红	500 mL	2 ~ 30 °C	常温
B310KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS), pH7.2	500 mL	2 ~ 30 °C	常温
B320KJ	磷酸盐缓冲液 (PBS), pH7.4	500 mL	2 ~ 30 °C	常温

推荐采用对数生长期且细胞活率大于 90 % 的细胞进行冻存。

推荐准备足够的细胞培养物, 保存适量条件培养基。

1. 准备冻存培养基 (45 % 新鲜的完全培养基 + 45 % 条件培养基 + 10 % DMSO), 并在 2 ~ 8 °C 避光条件下预冷 (不超过 24 小时); 推荐使用源培生物 CD-Freezer® 限定化学成分细胞冻存液。
2. 进行细胞计数, 计算细胞密度, 细胞活率和活细胞密度 ( $\rho_1$ ); 然后根据待保存的细胞数 ( $n$ ), 计算需要离心收集的细胞培养物的体积 ( $V_1$ ), 以及所需的冻存培养基的体积 ( $V_2$ )。一般冻存时的活细胞密度 ( $\rho_2$ ) 为  $0.5 \times 10^7 \sim 1 \times 10^7$  个/ml。  $V_1 = n / \rho_1$ ,  $V_2 = n / \rho_2$ 。
3. 离心 (100 × g, 5 ~ 10 分钟)  $V_1$  体积的培养物收集细胞, 除去上清; 使用  $V_2$  体积预冷的细胞冻存液将细胞重悬;
4. 根据后续使用需求, 将上述细胞重悬液分装到细胞冻存管中 (一般 1.5 mL 每管);
5. 在冻存管上做适当标识 (例如细胞名称、冻存时间及操作者);
6. 可使用程序化降温仪或者人工控制细胞的温度下降 (标准的冻存降温速率为  $-1 \sim -2$  °C/分钟)。当温度达  $-25$  °C 以下时, 温度降速可增至  $-5 \sim -10$  °C/分钟; 到  $-100$  °C 时, 则可迅速浸入液氮中;
7. 人工降温的操作方法可以是: 将细胞冻存管放入含有异丙醇的冻存盒中, 置于  $-20$  °C 冰箱 2 小时, 然后置于  $-80$  °C 冰箱中过夜, 最后单独取出冻存管移入液氮容器内。

注意: 细胞冻存 24 小时之后, 或者长期冻存 (比如半年后), 应该进行细胞复苏能力检测。