



# CHO CDpro CHO细胞全悬浮培养基

## 一、产品概述

CHO CDpro培养基是应用于CHO细胞培养和抗体/重组蛋白表达的化学成分限定培养基。

## 二、订购信息

表 1 订购信息

产品名称	液体		固体	
	货号	规格	货号	规格
CHO CDpro 培养基	SH10901-01	500mL/1L	SH1020	1L/5L/10L/50L/100L

## 三、产品参数

表2 CHO CDpro培养基产品参数

理化特性	外观	澄清浅黄色液体 均匀细致粉末
	pH	6.8-7.2
	渗透压	280-320mOsm/kg
	内毒素	≤10 EU/mL
	是否含有谷氨酰胺	否
	细胞相关	适用细胞
倍增时间		24h
保质期	保质期限（固体）	18个月
	保质期限（液体）	12个月

#### 四、使用范围

仅用于科研及工业生产，不能用于人体。

#### 五、配制过程

CHO CDpro培养基含有一个组分：

**表3 CHO CDpro配方量**

<u>组分</u>	<u>配方量</u>
-----------	------------

<u>CHO CDpro</u>	<u>22.962g/L</u>
------------------	------------------

CHO CDpro配制说明：

- 5.1. 确定配制总体积，选择合适容器进行配制，容器体积大于总体积；
- 5.2. 按照配方量在容器中加入培养基粉末，再加入约配制总体积80%的超纯水或注射用水，建议机械搅拌至少90min至粉末全部溶解；
- 5.3. 充分溶解后测定培养基pH，若测定值在正常范围内则无需调整，若测定值超出正常范围，则用1M的HCL或5M的NaOH调节至正常范围6.8-7.2；
- 5.4. 使用注射用水或超纯水定容至目标体积；
- 5.5. 无菌过滤。

#### 六、储存条件

2-8℃低温避光保存。

#### 七、培养基适应

7.1. 直接适应：最初培养阶段，细胞按初始密度  $0.5 \times 10^6$  cells/mL 接种，直接将培养基更换为 CHOCDpro，进行细胞培养。待细胞培养2-3代，且细胞生长稳定后进行后续实验。

CHO细胞稳定生长时按照  $0.5 \times 10^6$  cells/mL 密度接种，培养72小时密度  $\geq 3.5 \times 10^6$  cells/mL，细胞活率  $\geq 98\%$ 。

7.2. 间接适应：保持初始接种密度为  $0.5 \times 10^6$  cells/mL。细胞培养过程中逐步减少原培养基直至完成在 CHOCDpro培养基中完全培养。原培养基与 CHOCDpro 配比阶段

比例推荐为（75:25、50:50、25:75、10:90、最终为100%CHO CDpro 完全培养基），每个阶段至少适应3代，细胞生长稳定后进行后续实验。CHO细胞稳定生长时按照  $0.5-1.0 \times 10^6$  cells/mL 密度接种，72小时密度  $\geq 3.5 \times 10^6$  cells/mL，细胞活率活率  $\geq 98\%$ 。

### 7.3. 注意事项：

7.3.1. 根据细胞具体情况选择进行培养基直接适应或者间接适应。

7.3.2. 细胞驯化初期，若出现细胞生长密度较低、细胞结团等其他不稳定状态，根据当天细胞密度选择传代方式（稀释传代、离心传代）。

7.3.3. 稀释传代：根据细胞密度计算传代时所需细胞悬液，去除多余细胞悬液并补加新鲜培养基至培养体积。

7.3.4. 离心传代：根据细胞密度计算传代时所需细胞悬液，进行800rpm离心5min，去除上清，用新鲜培养基重悬细胞。

### 7.4. 细胞恢复正常状态传代：

**表 4 正常细胞生长数据**

细胞名称	培养基	接种密度 (cells/mL)	第3天细胞密度 [1] (cells/mL)	细胞活率 (%)	细胞平均 倍增时间 (h)
CHO	CHO CDpro	$0.5 \times 10^6$ cells/mL	$\geq 3.5 \times 10^6$ cells/mL	$\geq 98\%$	24

注释：[1] 不同计数方式可能存在差异。

## 八、CHO 悬浮细胞冻存

8.1. 待细胞恢复至正常状态后，扩大细胞培养体积准备冻存建库。尽量多建细胞库，保证备份充足（冻存管建议品牌：Corning，货号：430488）。

8.2. 选择处于对数生长期、活率  $\geq 90\%$  细胞进行冻存，冻存细胞密度： $10-15 \times 10^6$  cells/mL，推荐  $15 \times 10^6$  cells/mL。

8.3. 准备冻存盒：向程序降温盒注入适量异丙醇，置于4℃冰箱预冷。

8.4. 配制细胞冻存液：冻存液=80%培养培养基+10%FBS(建议使用进口胎牛血清)+10%DMSO，冻存液配好后置于4℃冰箱预冷（冻存液配制时，先加培养基再加血清或DMSO，防止DMSO浓度过高导致血清有效成分变性）。

8.5. 取细胞悬液，800rpm离心5min，弃去上清，用适量细胞冻存液重悬细胞，调整细胞密度至目标值。

8.6. 快速分装细胞液至冻存管中。

8.7. 将冻存管放入程序降温盒中，放于-80℃冰箱，24h后转至液氮罐中储存。一段时间后复苏检测。

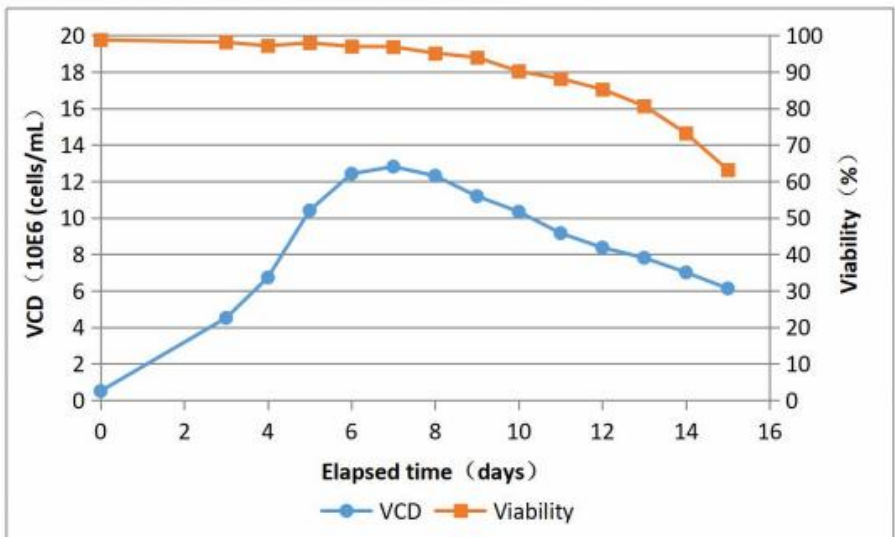
## 九、CHO 悬浮细胞复苏

- 9.1. 预热培养基：取25mL对应培养基置于摇瓶中，放入37°C二氧化碳培养箱中预热30min以上（目的平衡培养基pH值），保证预热充分。
- 9.2. 将冻存管从液氮保存罐或-80°C冰箱中取出，迅速转移至37°C水浴中，快速摇晃，直至完全融化。
- 9.3. 取预热好的培养基5mL于无菌离心管中，并将溶化后的细胞悬液移入此离心管中。800rpm离心5min（目的除去冻存液中DMSO）。
- 9.4. 离心后去除上清，用20mL预热好的培养基（目的保证较高细胞复苏密度）重悬细胞，移回相应摇瓶，放于培养箱中悬浮培养。

## 十、流加工工艺应用实例

10.1. CHO细胞流加工工艺，以 $0.5 \times 10^6$  cells/mL接种在CHOCDpro培养基中，待细胞生长稳定至 $3.5-4.0 \times 10^6$  cells/mL后，换至流加培养基中培养3天后细胞计数达到 $3.5-4.0 \times 10^6$  cells/mL开始以CHO NFpro加料液1%/24h加料，同时补充葡萄糖8g/L/24h，加料历时14天，最终产量可以达到3-4g/L。

10.2. 细胞生长曲线如下：



BM20220519