CellLucky ™ CD CHO系列无血清培养基

产品名称

Cell Lucky ™ CHO CD I

产品说明

Cell Lucky ™ CHO CD I 是一种无动物源成分、无蛋白成分、化学成分限定培养基，适合于CHO不同亚型中国仓鼠卵巢细胞（如CHO-K1、CHO-K1Q、CHO-S、CHO DG44、CHO-ZN等）的高密度悬浮培养。可实现重组蛋白和抗体的高水平表达，与CellLucky™系列补料联用，可支持细胞高密度生长及活率维持，实现更高水平的蛋白/抗体表达和质量。

配制说明——Cell Lucky ™ CHO CD I

1. 取洁净的配制容器，建议一次性配制体积不低于 1L；
2. 加入最终配制体积 90%的超纯水或注射用水，水温控制在 25~30℃；
3. 称量 21.33 g/L 干粉培养基，缓慢加入水中并搅拌；
4. 缓慢加入 5N NaOH 调节 pH 至 6.0 完全溶解；
5. 称量 1.80 g/L 碳酸氢钠，加入水中并持续搅拌 20 分钟；
6. 缓慢加入 5N HCl 将 pH 调回至 7.0；
7. 定容到最终配液体积，加入 NaCl 调节渗透压到 285 ± 10mOsm/kg（渗透压计算公式 ：NaCl 添加量(g)=配液体积(L)*(285-检测值)/31.5 ）；
8. 继续搅拌 10 分钟，无菌过滤到合适容器，2~8℃避光保存。

（注：液体培养基&粉末培养基中均不含L-Gln/L-Ala-Gln。）

培养条件

温度 37℃,湿度 80% ，5~8% CO2（根据实际工艺调整）

摇床设置：转速 110~150 rpm（振幅 50 mm ）

细胞复苏

1. 在 37℃水浴中快速（<2 min ）融化冷冻的细胞；
2. 将冷冻管中的细胞液全部转移到 125 ml 含有 30ml 预温过的 Cell Lucky ™ CHO CD I 培养基的摇瓶中；
3. 放入 37℃ ， 5~8% CO2，转速 110~130 rpm（振幅 50 mm ），湿度 80%的摇床中培养；
4. 细胞至少传代 2 次，待其完全复苏，细胞倍增时间（ Population Doubling Time ，PDT）稳定后， 可按计划进行后续操作。

细胞传代

1. 将Cell Lucky ™ CHO CD I 培养基放入 37℃条件下预热20-30 min；
2. 取细胞密度≥1E6 cells/ml、活率≥90%、处于对数生长期中期的细胞进行传代；
3. 按接种密度为 0.5E6 ~ 1.0E6 cells/L 的最终传代体积，计算所需种子液量；
4. 无菌转移所需量的种子液，添加至含所需体积的已预热的 Cell Lucky ™ CHO CD I 培养基的摇瓶中；
5. 将摇瓶放入温度 37℃,湿度 80%，转速 110~150 rpm（振幅 50 mm ），5%~8% CO2 的细胞培养摇床中进行培养；
6. 每 2~3 天用新鲜的培养基按上述步骤进行传代培养。

细胞冻存

1. 准备处于指数生长的中期，细胞活率＞90%，状态较好的细胞。
2. 测定活细胞密度，计算所需的冻存培养基体积，最终细胞密度＞ 1.0 E 7 cells/ml。
3. 准备所需的冻存培养基 90% Cell Lucky ™ CHO CD I 培养基+10%DMSO ，4℃冷藏保存。
4. 400 ×g 离心 5 分钟，用冻存培养基重新悬浮细胞。
5. 根据项目具体需要，将悬浮液进行等分保存于适宜规格的冷冻管中。
6. 按照标准程序，对冷冻管进行自动或手工操作降温（每分钟降 1℃ ）。
7. 将细胞转移到液氮罐中保存。

细胞驯化

直接接种法

1. 对于可以直接接种的细胞，可以从无血清培养基中直接接种到Cell Lucky ™ CHO CD I 培养基中，接种密度参考传代步骤，并需要依据具体情况而定。
2. 继续传代细胞，直到细胞稳定生长。
3. 传代几次后，细胞密度在接种的 3~4 天内达到 2.0 E 6 cells/ml 及以上、细胞活率＞ 90%，且倍增时间稳定，此时可以认为细胞已被驯化成功。

梯度驯化法

1. 对于传统的生长在 5~10%血清或无血清的细胞，采用梯度驯化法，接种密度3.0 E5~4.0 E5 cells/ml。
2. 监测细胞生长情况，直到细胞密度达到 ≥ 2.0 E 6 cells/ml。
3. 用 Cell Lucky ™ CHO CD I 培养基：原始培养基 = 25:75 的比例稀释细胞。直到这个比例的培养基细胞生长良好， 再进一步稀释培养。在接下来的每次操作中，提高 Cell Lucky ™ CHO CD I 培养基的比例，如下表所示。

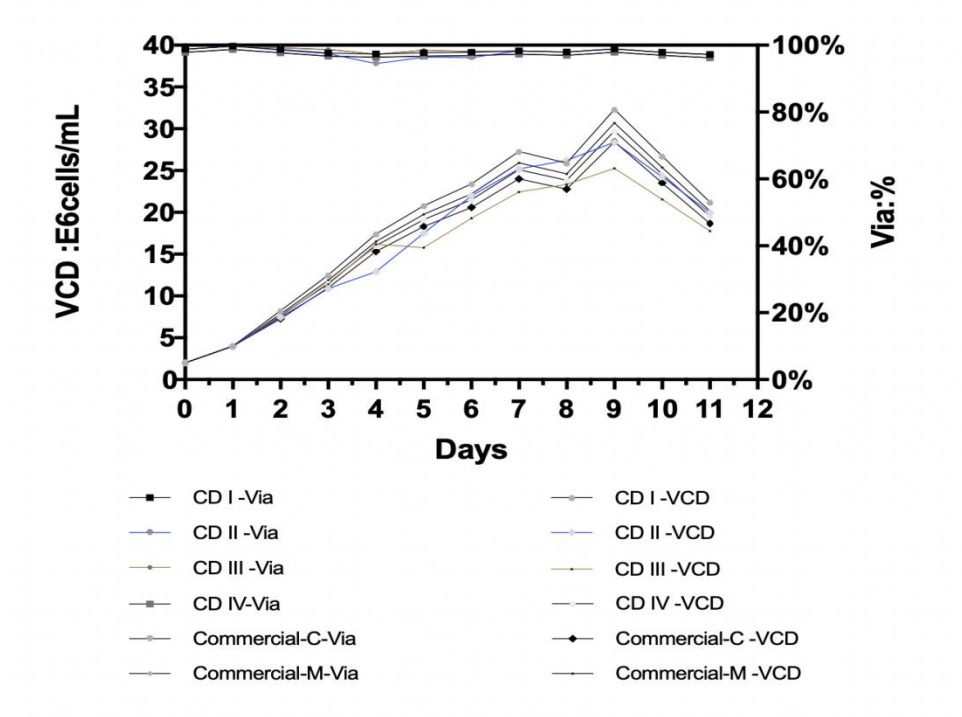
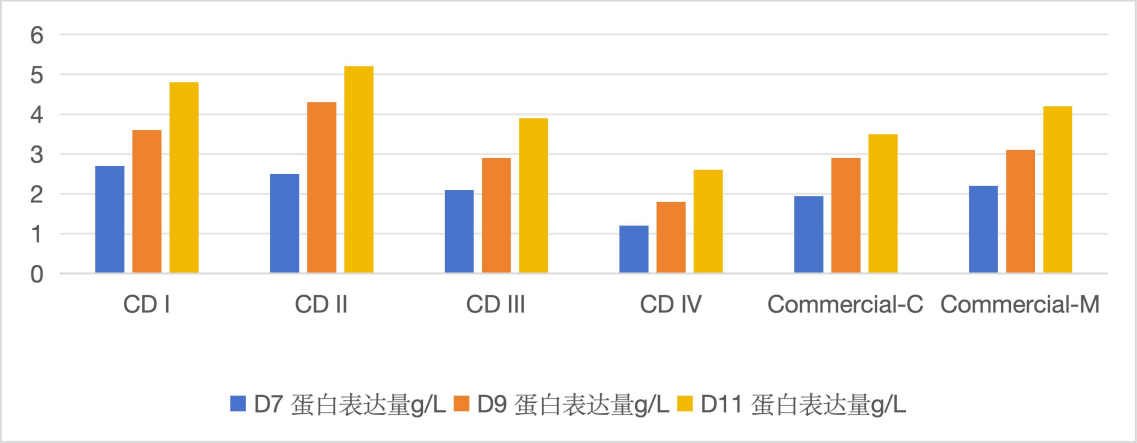
Cell Lucky ™ CHO CD I：原始培养基（%）	接种细胞密度(E6 cells/ml)	细胞生长评估	进行下一步前的验收标准
25 : 75	3.0 ~ 4.0	VCD & Viability	VCD≥2 E6 /ml, Viability≥90% over 2 passages
50 : 50	3.0 ~ 4.0	VCD & Viability	VCD≥2 E6 /ml, Viability≥90% over 2 passages
75 : 25	3.0 ~ 4.0	VCD & Viability	VCD≥2 E6 /ml, Viability≥90% over 2 passages
90 : 10	3.0 ~ 4.0	VCD & Viability	VCD≥2 E6 /ml, Viability≥90% over 2 passages
100 : 0	3.0 ~ 4.0	VCD & Viability	VCD≥2 E6 /ml, Viability≥90% over 2 passages

4. 在完全使用 Cell Lucky ™ CHO CD I 培养基接种 3~4 天之后，活细胞计数应该至少达到 2 × 106cells/ml，细胞活性≥ 90%。此时，细胞已经驯化到 Cell Lucky ™ CHO CD I 培养基中。

储存和有效期

Cell Lucky ™ CHO CD I

1. 液体包装：2~8℃避光储存， 有效期为 12 个月；
2. 粉末包装：2~8℃避光储存， 有效期为 24 个月。

案例分析一

Cell Line：CHO-K1Q 单抗项目		Cat No
Basal Medium：	Cell Lucky ™ CHO CD I	B1001.02
	Cell Lucky ™ CHO CD II	B1002.02
	Cell Lucky ™ CHO CD III	B1003.02
	Cell Lucky ™ CHO CD IV	B1004.02
Feed Medium：	Cell Lucky ™ CD Feed I A	B1011.02
	Cell Lucky ™ CD Feed I B	B1012.02
cell culture process ：	Fed Batch	-