

OPM-CD TransCHO

化学成分确定 CHO 细胞转染培养基

—— 用于生物制药研发及生产



OPM-CD TransCHO 是一种化学成分确定 (chemically defined)、无动物源组分的培养基，不含蛋白质、生长因子、水解物或未知组成的成分，专为中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞的生长和悬浮培养中的转染而开发，适合于不同亚型中国仓鼠卵巢细胞 (CHO-K1、CHO DG44 和 CHO-S 细胞)。配制的培养基不含次黄嘌呤和胸腺嘧啶，可用于二氢叶酸还原酶 (DHFR) 扩增系统；不含 L-谷氨酰胺，可用于谷氨酰胺合成酶筛选系统；不含酚红，可最大程度地减少酚红的类似雌激素的作用。OPM-CD TransCHO 与补料 OPM-CHO ProFeed 联用可提高蛋白质产量。

应用范围

OPM-CD TransCHO 细胞培养基可应用于高密度悬浮细胞扩增以及流加培养。该基础培养基即适用于科研应用，也适用于大规模生物药生产，但不可直接用于人体或作为药物使用。

储存运输方法

储存：2~8°C 冷藏，干燥避光保存

运输：常温（液体）、冷藏（干粉）

有效期

OPM-CD TransCHO 液体：12 个月

OPM-CD TransCHO DPM 干粉：24 个月

液体培养基配制方法

1. 取最终配制体积 90% 的超纯水，水温 25~35°C（注：一次性配制体积不低于 1L）；
2. 称量 19.83 g/L 干粉培养基，缓慢加入水中并搅拌 10 分钟；
3. 缓慢添加 5N NaOH 调节 pH 到 6.0，持续搅拌 20 分钟；
4. 称量 2.22 g/L 碳酸氢钠，加入水中并持续搅拌 10 分钟；
5. 缓慢添加 5N NaOH 调节 pH 到 7.0，持续搅拌 20 分钟；
6. 加超纯水校正到最终配液体积；用 NaCl 调节渗透压到 285±10 mOsm/kg（渗透压计算公式：NaCl 添加量 (g) = 配液体积 (L) * (285-检测值) / 31.5）；
7. 继续搅拌 10 分钟，无菌过滤到合适容器。

干粉及液体培养基质量指标

产品指标	OPM-CD TransCHO Medium	OPM-CD TransCHO DPM
外观	橙红色透明液体	类白色或淡黄色、均一粉末
pH 值	7.0~7.5	7.0~7.5
渗透压(mOsm/kg)	270~300	270~300
溶解性	—	按配制规程操作溶解良好
内毒素(EU/mL)	<1.0	<1.0
细胞生长试验	符合细胞培养检测要求	符合细胞培养检测要求
无菌检查	阴性	—

培养条件

温度 37°C，湿度 80%，5~8%CO₂

摇床设置：转速 110~150rpm（振幅 50mm）

细胞复苏

使用前将原始培养基和 OPM-CD TransCHO 培养基预热至 37°C，补充 6mM L-谷氨酰胺。根据原始培养基方法回收细胞。

细胞传代

1. 使用前将原始培养基和 OPM-CD TransCHO 培养基预热至 37°C，并补充 6mM L-谷氨酰胺。
2. 每 2~3 天进行细胞传代，以保持细胞处于对数生长期的早期。
3. 接种的活细胞密度为 $(0.3\sim 0.6) \times 10^6$ cells/ml。
4. 当细胞密度达到 $(3\sim 4) \times 10^6$ cells/ml，细胞活力大于 95%（2~4 天）时，再次传代培养细胞。注意：保持种子细胞处于对数生长期是非常关键的，不同类型的 CHO 细胞可能具有不同的对数生长期范围。
5. 重复上述步骤以保种或扩增细胞以进行转染和表达。

细胞驯化

在开始驯化程序之前，确保细胞活力 $\geq 95\%$ 并且生长速度处于对数中期。在 37°C，8%CO₂ 的培养箱中，以 125 rpm $\pm 5\%$ 转速孵育细胞。

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 OPM-CD TransCHO 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. 传代几代之后，细胞密度达到 2×10^6 cells/mL、细胞活性 $\geq 85\%$ 时在 3~4 天内接种。此时，可以认为细胞已被驯化成功。

梯度驯化法

如果使用直接驯化方法效果一般，请使用梯度驯化方法。使用前将原始培养基和 OPM-CD TransCHO 培养基预热至 37°C，并补充 6mM L-谷氨酰胺。以下是一些要点：

1. 选择较低代的细胞，并确保细胞处于对数生长阶段。
2. 使用原始培养基复苏细胞，并继续使用原始培养基传代 2~3 代，以实现稳定的细胞生长。
3. 当细胞密度达到 $(3\sim 4) \times 10^6$ cells/ml 时，将细胞按 0.6×10^6 cells/ml 的密度接种到含有 1/3 体积的 OPM-CD TransCHO 和 2/3 体积的原始培养基的培养基。
4. 当细胞密度达到 $(3\sim 4) \times 10^6$ cells/ml 且细胞活力大于 95%（3~4 天）时，将细胞以 0.5×10^6 cells/ml 接种到含有 OPM-CD TransCHO（2/3 体积）和原始培养基的（1/3 体积）的培养基。
5. 当细胞密度达到 3×10^6 cells/ml 且细胞活力大于 95%（3~4 天）时，将细胞接种（ 0.4×10^6 cells/ml）到 100% OPM-CD TransCHO 培养基中。
6. 将细胞以 0.3×10^6 cells/ml 的密度接种在 OPM-CD TransCHO 培养基中，并继续传代 2~3 代以实现稳定的细胞生长。

注意：保持种子细胞处于对数生长期是非常关键的，不同类型的 CHO 细胞可能具有不同的对数生长期范围。

推荐的转染条件

推荐的转染条件

最佳转染条件应根据具体情况进行优化，并可能需要通过 DOE 方法确定。以下转染条件仅供参考。

VCD	(5~6)x10 ⁶ cells/ml, 活率> 95%
DNA	(~1)mg/L
PEI	5~8mg / L

推荐的表达和补料策略

转染 16-20h 后，将培养箱温度从 37°C 调节至 32°C。

添加补料 OPM-CHO ProFeed 可提高蛋白质产量。

推荐的补料策略如下：

1. 转染后细胞复苏良好（存活率大于 90%）时，分别在转染后的 D1/D3/D5 添加 OPM-CHO ProFeed 补料，补料量为初始培养体积的 7.5%。当葡萄糖 ≤3g/L 时，按 6g/L 的终浓度添加葡萄糖浓缩液。
2. 转染后细胞复苏不佳时（转染后细胞的倍增时间明显延长，或在第 1 天的存活率低于 90%），观察并根据细胞复苏确定进料起点。
3. 在分泌表达中，活率 ≤60% 时收获细胞。在细胞内表达系统和膜蛋白表达系统中，当活率 ≤85% 时收获细胞。

订购信息

基础培养基

产品	产品号	类型	规格
OPM-CD TransCHO	P83059	液体	1000mL
OPM-CD TransCHO DPM	P93059	干粉	10L/50L/100L

高性能补料

产品	产品号	类型	规格
OPM-CHO ProFeed	P81279	液体	1000mL

上海奥浦迈生物科技股份有限公司
Shanghai OPM Biosciences Co., Ltd.奥浦迈总部：上海市浦东新区紫萍路908弄28号楼
CDMO服务基地：上海市浦东新区半夏路100弄3号楼
培养基&CDMO生产基地：上海市奉贤区正博路356号C3&D3021-6818 2622
service@opmbiosciences.com
www.opmbiosciences.com