

OPM-CHO CD08

全新化学成分确定 CHO 细胞培养基

— 用于 CHO 细胞悬浮培养与转染



OPM-CHO CD08 是化学成分确定 (Chemically-defined) 的细胞培养基，不含水解物，不含生长因子及任何动物来源的成分，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。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。该培养基与其配套的补料 OPM-CHO ProFeed 联用可提高蛋白质产量。

应用范围

OPM-CHO CD08 可应用于高密度悬浮细胞扩增以及流加培养。该培养基适用于科研和基于细胞培养的大规模生物制品的生产，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-CHO CD08 Medium 液体：12 个月

OPM-CHO CD08 DPM 干粉：24 个月

液体培养基配制方法

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 25~35°C；
3. 称量 16.05 g/L 干粉培养基，缓慢加入水中搅拌 10 分钟；
4. 称量 2.22 g/L 碳酸氢钠，加入水中搅拌；
5. 缓慢加入 5N NaOH 调节 pH 到 8.3~8.5，搅拌 30 分钟，此时应完全溶解；
6. 缓慢加入 5N HCl 将 pH 调回至 7.0；
7. 定容到最终配液体积，继续搅拌 5 分钟，测 pH，用 5N NaOH 或 5N HCl 将 pH 调回至 7.0；
8. 取样测渗透压，加入 NaCl 调节渗透压至 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)；
9. 继续搅拌 10 分钟，无菌过滤到合适容器，2~8°C 避光保存。

干粉及液体培养基质量指标

产品指标	OPM-CHO CD08 Medium	OPM-CHO CD08 DPM
外观	红色透明液体	类白色或淡黄色、均一粉末
pH 值	7.0~7.4	7.0~7.4
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
无菌检查	应无菌生长	—

培养条件

温度 37°C，湿度 80%，5~8% CO₂

摇床设置：转速 110~150 rpm（振幅 50 mm）

细胞复苏

使用前将原始培养基和 OPM-CHO CD08 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-CHO CD08 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-CHO CD08 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。
- 4.

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-CHO CD08 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-CHO CD08 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-CHO CD08（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-CHO CD08 培养基中。
6. 将细胞以 0.3×10^6 cells/ml 的密度接种在 OPM-CHO CD08 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) × 10 ⁶ cells/ml, 活率 > 95%
DNA	(~1) mg/L
PEI	5~8 mg / 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-CHO CD08 Medium	P081308-001	液体	1000ml
OPM-CHO CD08 DPM	P091308-010	干粉	10L
	P091308-050	干粉	50L



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 & D3

021-6818 2622
service@opmbiosciences.com
www.opmbiosciences.com

