

SagiCHO™

化学成分确定 CHO 细胞培养基 —— 用于生物制药研发及生产

SagiCHO™ 是化学成分确定 (Chemically-defined) 基础培养基，不含水解物、蛋白、生长因子及任何动物来源的成分，适合于不同亚型中国仓鼠卵巢细胞 (CHO-K1、CHO DG44 和 CHO-S 细胞) 的高密度悬浮培养，可实现重组蛋白和抗体的高水平表达。SagiCHO™ 基础培养基与高性能补料及超浓缩补料联用，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。

应用范围

SagiCHO™ 可应用于 CHO 细胞的复苏、传代以及高密度流加培养。该基础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

SagiCHO™ Medium 液体：12 个月
SagiCHO™ 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 21.73 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 290 ± 15 mOsm/kg (渗透压计算公式： $\text{NaCl 添加量 (g)} = \text{配液体积 (L)} * (290 - \text{检测值}) / 31.5$)；
9. 继续搅拌 10 分钟，无菌过滤到合适容器，2~8°C 避光保存。

培养条件

温度 37°C，湿度 80%，5~8% CO₂
摇床设置：转速 110~150rpm (振幅 50 mm)

细胞复苏

1. 在 37°C 水浴中快速 (< 2min) 融化冷冻的细胞；
2. 将冷冻管中的细胞液全部转移到 125ml 含有 30ml 预温过的 SagiCHO™ 培养基的摇瓶中；
3. 放入 37°C，5~8% CO₂，转速 110~130rpm (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 SagiCHO™ 培养基放入 37°C 条件下预热 20~30 min；
2. 取细胞密度 $\geq 1 \times 10^6$ cells/ml、活率 $\geq 90\%$ 、处于对数生长期中期的细胞进行传代；
3. 按接种密度为 $0.5 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^6$ 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 SagiCHO™ 培养基的摇瓶中；
5. 将摇瓶放入温度 37°C，湿度 80%，转速 110~150rpm (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 SagiCHO™ 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 2×10^6 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 $3 \times 10^5 \sim 4 \times 10^5$ cells/ml。
2. 监测细胞生长情况，直到细胞密度达到 $\geq 2 \times 10^6$ cells/ml。
3. 用 SagiCHO™ 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 SagiCHO™ 培养基的比例，如下表所示。
4. 在完全使用 SagiCHO™ 培养基接种 3~4 天之后，活细胞计数应该至少达到 2×10^6 cells/ml，细胞活性 $\geq 90\%$ 。此时，细胞已经驯化到 SagiCHO™ 培养基中。

SagiCHO™: 原始培养基 (%)	接种细胞密度 ($\times 10^5$ cells/ml)	细胞生长评估	进行下一步前的验收标准
25 : 75	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /ml, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
50 : 50	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /ml, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
75 : 25	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /ml, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
90 : 10	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /ml, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
100 : 0	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /ml, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages

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 $> 1 \times 10^7$ cells/ml。
3. 准备所需的冻存培养基 90% SagiCHO™ 培养基+10%DMSO，4℃冷藏保存。
4. $400 \times g$ 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。

订购信息
基础培养基

产品	产品号	类型	规格
SagiCHO™ Medium	P226301	液体	1000ml
SagiCHO™ DPM	P220618	干粉	10L/50L/100L

高性能补料

产品	产品号	类型	规格
AltairCHO® Feed	C675219	液体	500ml
AltairCHO® Feed DPM	C679332	干粉	10L/50L
VegaCHO® Feed	P134305	液体	500ml
VegaCHO® Feed DPM	P120826	干粉	10L/50L

超浓缩补料

产品	产品号	类型	规格
CDFS36	C217836	液体	500ml/1000ml
CDFS36 DPM	C672069	干粉	1L//10L/50L

添加剂

产品	产品号	类型	规格
OPM GAL+V2 半乳糖基化调节剂	S81912	液体	100ml/1000ml
OPM-ACA 抗细胞结团剂	S0907001	液体	100ml/500ml/1000ml

