

StarCHO

全新 CHO 细胞化学成分确定培养基

—— 用于生物制药研发及生产



StarCHO 是专为 CHO 细胞设计开发的全新化学成分确定基础培养基，不含水解物、蛋白及任何动物来源，适用于常见中国仓鼠卵巢（CHO）细胞（CHOZN、CHO-K1、CHO DG44、CHO-S 等）的高密度悬浮培养，可实现重组蛋白的高水平表达。StarCHO 基础培养基与全新高性能补料 **StarCHO Feed** 及超浓缩补料 CDFS36 联用，可实现更高水平的蛋白表达和质量。

应用范围

StarCHO 可应用于 CHO 细胞复苏、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

StarCHO Medium 液体：12 个月
 StarCHO 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 20.45 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 50mm）

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 StarCHO 培养基的摇瓶中；
3. 放入 37°C，5~8% CO₂，转速 110~130rpm（振幅 50mm），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 StarCHO 培养基放入 37°C 条件下预热 20-30min；

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 StarCHO 培养基的摇瓶中；
5. 将摇瓶放入温度 37°C ，湿度 80% ，转速 $110 \sim 150$ rpm（振幅 50 mm）， $5\% \sim 8\% \text{CO}_2$ 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 StarCHO 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 StarCHO 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 StarCHO 培养基的比例，如下表所示：

StarCHO: 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

4. 在完全使用 StarCHO 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 $\geq 85\%$ 。此时，细胞已经驯化到 StarCHO 培养基中。

补料培养

时间线	步骤	补料量
Day 0	将驯化好的细胞以 $0.5 \times 10^6 \sim 1.5 \times 10^6$ cells/ml 接种至 StarCHO 基础培养基中。	—
Day 2-4	当培养体系中细胞密度达到 $4.0 \times 10^6 \sim 6.0 \times 10^6$ cells/ml 时, 添加第一次 StarCHO Feed 补料培养基与 CDFS36 超浓缩补料。	StarCHO Feed: 3~6%; CDFS36: 0.3%~0.6%
Day 4-14/16	每隔天添加 StarCHO Feed 补料培养基与 CDFS36 超浓缩补料至培养结束。	StarCHO Feed: 3~6%; CDFS36: 0.3%~0.6%

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 > 1×10^7 cells/ml。
3. 准备所需的冻存培养基 90% StarCHO 培养基+10% DMSO, 4°C 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°C)。
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
StarCHO DPM	P226718	干粉	10L/50L/100L
StarCHO Medium	P225082	液体	1000mL

高性能补料

产品	产品号	类型	规格
StarCHO Feed DPM	P224028	干粉	10L
StarCHO Feed	P223635	液体	1000mL

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

细胞培养添加剂

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



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

