

# EX-CELL™ CD CHO Fusion

## 用于CHO细胞的无血清培养基

### 化学成分限定，无动物组分

不含L-谷氨酰胺，不含碳酸氢钠

CATALOG NO. 24365C

货号24365C

### 说明

EX-CELL™ CD CHO Fusion是一种化学成分限定、无动物组分的培养基，为中华仓鼠卵巢(CHO)细胞的长期生长而开发。由于不含大分子，可以从细胞中分离和纯化分泌蛋白。该培养基不含L-谷氨酰胺，以提高培养基稳定性，避免因L-谷氨酰胺降解而引起氨积累，为培养CHO细胞提供适当的培养基（使用谷氨酰胺合成酶或GS, System™）。该培养基不含次黄嘌呤或胸腺嘧啶核苷，从而可与二氢叶酸还原酶 (DHFR-)基因扩增系统一同使用。

### 配制

EX-CELL™ CD CHO Fusion的配方为SAFC Biosciences™ 专有。关于更多信息，请致电我们的技术服务部。

### 注意事项

处理或补充该培养基时，使用无菌技术。本产品仅用于研究或进一步生产。  
**本产品不能用于人体或治疗用途。**

### 储存

在2 ~ 8 °C下储存干粉培养基。在2 ~ 8 °C下避光储存培养基水溶液。过期勿用。

## 变质迹象

干粉培养基应当易流动。若培养基结块，请勿使用。液体培养基应当透明且无颗粒和絮凝物。若液体培养基浑浊或含有沉淀物，请勿使用。变质的其他证据可能包括：颜色变化，pH改变，物理或性能特性变化。

## 制备说明

干粉培养基在颗粒减少工艺中的适当时刻进行真空干燥，并在湿度受控的环境中包装。这种处理可确保最大程度的脱水和产品稳定性。最终产品极易吸湿，必须避免接触大气中的水分。我们建议在开启包装后立即使用全部内容物。不建议制备浓溶液，因为有些氨基酸的溶解度系数低，有些盐倾向于形成不溶性复合物。

EX-CELL™ CD CHO Fusion配制时不含L-谷氨酰胺，也不含碳酸氢钠。

- 1.量取80-90%最终所需体积的细胞培养用水（货号59900C），加入到适当大小的混合容器中。水温应当为20 ~ 30 C。
- 2.缓慢加入20.09 g/L的EX-CELL™ CD CHO Fusion干粉培养基。用少量的细胞培养用水冲洗包装，以洗掉痕量粉末并添加到溶液中。
- 3.至少混合20分钟，或直至完全溶解。请勿加热培养基。
- 4.添加1.25 g/L的碳酸氢钠（货号90421C）。混合直至完全溶解。
- 5.在混合时，使用1N NaOH 或 1N HCl将pH调整至7.2-7.4。
- 6.向溶液中添加细胞培养用水，定容到最终体积，继续混合至少60分钟。为避免pH波动，保持容器密闭直至过滤培养基。
- 7.无菌过滤器采用低蛋白结合的膜式过滤器，孔径为0.22μm。对于大容量情况，推荐采用低蛋白结合的0.45μm预过滤器。为了最大限度地减少CO<sub>2</sub>损失，可使用蠕动泵或惰性气体（例如氮气），以提供2-15psi的正压力。请勿使用CO<sub>2</sub>气体。

**注意：**对于需要使用L-谷氨酰胺的应用场合，则补充4-8mL-L-谷氨酰胺，方法是在使用前添加20-40mL/L的200mM溶液（货号59202C）。SAFC Biosciences建议仅对工作体积补充L-谷氨酰胺。其他补充物（例如抗菌素）可使用无菌技术添加到灭菌培养基中。补充后产品的储存条件和储存有效期，可能受到补充物性质的影响。



## 使用方法

对于来自非EX-CELL™ CD CHO Fusion的其他制剂的细胞，建议执行以下程序。

1. 通过在20-30 mL EX-CELL™ CD CHO Fusion中植入新培养物（密度为 $4 \times 10^5$ 细胞/mL），对活跃生长的细胞执行次代培养。
2. 对原种每三至四天执行传代培养，接种密度为 $4 \times 10^5$ 细胞/mL。
3. 原种继续传代四至六次，直至活率稳定在 $> 90\%$ 。
4. 细胞在EX-CELL™ CD CHO Fusion中完全驯化后，可将接种密度调低，以开始新的培养。

## 培养技术

培养物完全驯化后，应当每3-4天进行一次细胞传代，接种密度至少为 $2-4 \times 10^5$ 细胞/mL。应当由研究人员确定每种应用和细胞类型的最佳接种密度。

细胞传代时，培养基携带不应当超过最终体积的25%。若携带超过25%，建议执行离心。在无血清或无蛋白质的培养基中增殖的细胞极其脆弱。必须修改标准离心技术，使其包括低速离心，以防止损坏在无血清培养基中增殖的细胞。

## 冻存

### 冷冻：

可将细胞冷冻在EX-CELL™ CD CHO Fusion中，而无需重新引入血清。

1. 选择一种活率超过90%的对数生长培养物。
2. 配制冷冻培养基（由45%的低温EX-CELL™ CD CHO Fusion培养基、45%的废培养基和10%的二甲基亚砷 (DMSO)组成）。
3. 让细胞在200g下离心5分钟。除去上清液。
4. 让细胞再悬浮于冷冻培养基中（细胞密度为 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 细胞/mL）。
5. 将1-2 mL该悬液快速转移到无菌的冷冻小瓶中。
6. 将小瓶在 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 下放置3 - 4小时，然后转移至 $-70\text{ }^\circ\text{C}$ 下，放置16 - 24小时。

7.将小瓶转移到液氮蒸气中，以长期储存。

#### 复苏：

- 1.在37 °C水浴中，快速复苏一个冷冻细胞小瓶。
- 2.以无菌方式将细胞转移到盛有10mL急冷EX-CELL™ CD CHO Fusion培养基的离心管中。
- 3.使用低速离心，让细胞悬液在200g下沉淀5分钟，小心倾去上清液，而不扰动细胞颗粒。
- 4.让细胞再悬浮于5mL EX-CELL™ CD CHO Fusio培养基中。
- 5.进行细胞活率计数，并转移到无菌组织培养瓶中，接种密度为 $4 \times 10^5$ 细胞/mL。
- 6.当细胞密度达到 $1-2 \times 10^6$ 细胞/mL时，使用标准细胞培养技术，让细胞传代。

## 特性

### 外观

易流动的粉末

### 渗透压（按供货）

参阅分析证书

### pH（按供货）

参阅分析证书

## 产品概况

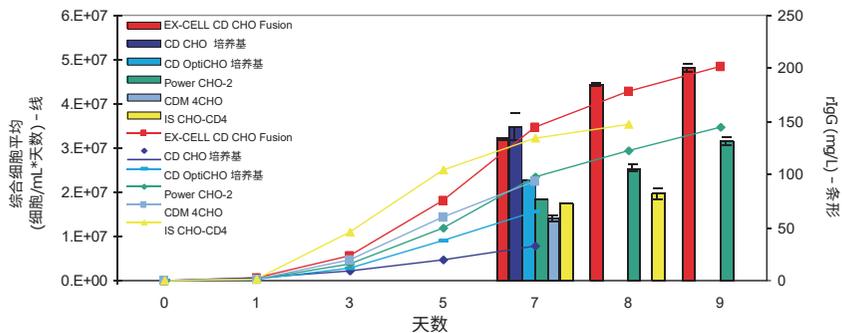
SAFC Biosciences公司的EX-CELL™ CD CHO FUSION，与五种为CHO细胞设计的化学成分限定的竞争者制剂进行了比较（表1）。为进行这些比较，使用了三种生产rIgG的专有CHO细胞株。

**注意：**所有细胞株均在每种制剂中传代六次以进行驯化，然后才可评估细胞增殖和表达量。细胞株2在GIBCO CD CHO中不能驯化。

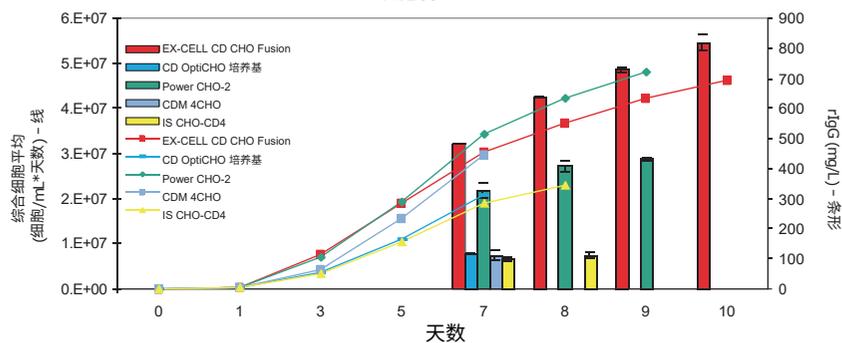
**表1：**用于比较测定的CHO制剂。

培养基	生产商	货号
EX-CELL™ CD CHO FUSION	SAFC Biosciences	14365C/24365C
CD CHO培养基	GIBCO	10743
CD OptiCHO™培养基	GIBCO	12681
PowerCHO®-2	BioWhittaker（龙沙）	12-771Q
CDM4CHO™	HyClone（赛默科技）	SH30558
IS CHO-CD4™	Irvine Scientific	91100

### 细胞株1



### 细胞株2



### 细胞株3

