

产品信息

1.01885 Cellvento™ CHO-200 化学成分限定细胞培养基

产品描述

Cellvento™ CHO-200 是一个无动物来源、化学成分限定的细胞培养基，适用于流加培养模式。本培养基可用于 CHO 细胞表达系统的生物治疗产品的开发和生产中。Cellvento™ CHO-200 不含酚红、L- 谷氨酰胺、次黄嘌呤、胸腺嘧啶脱氧核苷和碳酸氢钠，干粉包装。

应用范围

Cellvento™ CHO-200 主要适用于流加培养模式下 CHO-S 细胞的高效生长，与 Cellvento™ Feed 产品联合使用。同时该产品也可用于常见 CHO 细胞株的培养。在使用或添加该培养基前须进行过滤以保证无菌条件。本产品适用于科研或生产，不能用于人体或治疗使用。

配制方法：

为了使用的灵活性，本培养基不含谷氨酰胺。在用于非 GS 系统细胞株培养前，须添加 4–8mM L- 谷氨酰胺(货号 1.00286)。

同样的，在用于非 DHFR 表达系统细胞培养前，须添加标准浓度的次黄嘌呤和胸腺嘧啶脱氧核苷。

Cellvento™ CHO-200 培养基的配制无须添加表面活性剂 (例如：F68)。

在培养基配制过程中，按照如下流程添加碳酸氢钠 (货号：1.37013)。

更多关于 Cellvento™ 产品相关信息请登录
www.merckmillipore.com/cellvento

配制 10 升 Cellvento™ CHO-200 液体培养基方法：

1. 在一合适的容器中，取 8 升 Milli-Q 水 (或同类等级的水，室温) 缓慢加入 232.5 克干粉培养基。
2. 缓慢搅拌 45–60 分钟至完全溶解，然后用 5M 氢氧化钠调节 pH 至 5.5+/-0.2。
3. 添加 2 克 / 升的碳酸氢钠，搅拌至完全溶解 (约 10 分钟)。
4. 用 5M 氢氧化钠调节 pH 至 7.0+/-0.2，如有需要可使用 1M 盐酸。
5. 添加细胞培养等级的水定容至 10 升，并确认 pH 至 7.0+/-0.2。
6. 最终渗透压应为 315+/-10 mOsmol/kg，如有必要，可使用 5M 氯化钠进行调节。
7. 使用 0.2 微米滤膜过滤。
8. 于 2–8°C 避光保存。

产品标准

外观	白色至浅粉色
溶解性	易溶
PH (未添加其他成分)	3.9-4.5
渗透压 (未添加其他成分)	240-290 mOsmol/kg
含水量	≤3.5%
内毒素	≤1.0 I.U./mL
微生物纯度 (活菌计数)	≤100cfu/g
支原体	无
细胞生长试验	72小时后达到1×10 ⁶ cells/ml

*上表所示pH和渗透压是未添加碳酸氢钠所测

贮存

干粉培养基于2-8°C避光保存，过有效期后不要使用。

有效期

12个月

CHO细胞直接驯化*

一些细胞株可以直接驯化至 Cellvento™ CHO-200 培养基中。细胞以 2.5×10^5 – 3.5×10^5 接种，当细胞密度达到 1×10^6 – 3×10^6 和细胞活率大于 90% 时传代。当至少两代细胞能维持正常的倍增时间和细胞活率大于 90% 时，即完成驯化。

* 当细胞在 Cellvento™ CHO-100 培养基培养时，通常情况下可直接驯化至 Cellvento™ CHO-200 培养基。如细胞用 Cellvento™ CHO-100 培养基冻存，苏后须使用 Cellvento™ CHO-100 培养基至少培养 1 代，然后传代至 Cellvento™ CHO-200 培养基。

CHO细胞连续驯化

如下所述的驯化程序是在细胞处于对数生长期进行通用的传代方法，细胞经过3–4天培养后进行传代，建议在每个驯化步骤进行至少2代以上的培养，以确保细胞能够顺利的适应至新的环境中。

目前使用培养基： Cellvento™ CHO-200(%)	细胞接种密度 ($\times 10^5$ cells/ml)	细胞生长状态	进行下一步驯化步骤的评价指标
75:25	3.0-4.0	细胞密度、活率处于细胞对数生长期。	正常倍增时间；细胞活率≥90%，培养2代以上。
50:50	3.0	细胞密度、活率处于细胞对数生长期。	正常倍增时间；细胞活率≥90%，培养2代以上。
25:75	3.0	细胞密度、活率处于细胞对数生长期。	正常倍增时间；细胞活率≥90%，培养2代以上。
0:100	3.0	细胞密度、活率处于细胞对数生长期。	细胞倍增时间达到正常水平，驯化结束；细胞活率≥90%，培养2代以上。

更多信息，请联系：

电话：+86-10-80110922 (80110230)
邮件：MMBS_skywing@merckgroup.com

北京

地址：北京市昌平区科技园区白浮泉路11号
邮编：102200
电话：010-80110922
传真：010-80110230

上海

地址：上海市浦东张江高科技园区晨晖路88号2号楼2楼
邮编：201203
电话：021-38501893
传真：021-53060838

细胞冻存

细胞冻存液建议为90% Cellvento™ CHO-200和10%二甲亚砜 (DMSO)。

冻存：

- 冻存细胞处于对数生长期，活率大于 90%。
- 将 90% Cellvento™ CHO-200 与 10% DMSO 混合，放置于 2–8°C，备用。
- 将细胞以 1000rpm 离心 5 分钟 (100–200xg(rcf))。
- 缓慢倒出上清液，使用冻存液重新悬浮细胞，细胞密度 5×10^6 – 1×10^7 。
- 将细胞转移至无菌冻存管中。
- 将细胞于 –80°C 冻存 24 小时，然后置于液氮中长期贮存。

复苏

- 直接将冻存管置于 37°C 水浴解冻。
- 室温下将细胞转移至离心管中 (已添加 10ml Cellvento™ CHO-200 培养基)。
- 将细胞以 1000rpm 离心 5 分钟。
- 缓慢倒出上清液，使用适量的 Cellvento™ CHO-200 培养基重新悬浮细胞。以 3×10^5 – 5×10^5 的密度将细胞接种至摇瓶中。
- 将摇瓶置于 37°C、5% CO₂ 条件下培养，直至细胞密度达到 1×10^6 。然后，按照通用流程进行细胞传代。

Cellvento™ CHO-200订货信息

	产品名称	包装	可配成液体
1.01885.0010	Cellvento™ CHO-200	0.232千克	10升
1.01885.0100	Cellvento™ CHO-200	2.325千克	100升