

CHO-GS 中国仓鼠卵巢细胞（谷氨酰胺系统）
Chinese Hamster Ovary cells (glutamine system) ,CHOGS

细胞介绍

CHO-GS 细胞是用含单抗蛋白等的目的基因和谷氨酰胺合成酶(GS)基因标记的表达载体,转染宿主细胞 CHO,再通过 L-氨基亚砷蛋氨酸(methionine sulphoximine, MSX)等化合物选择加压促使 GS 基因和目的蛋白基因扩增,筛选获得重组细胞株,可在不含谷氨酰胺培养基中生长、增殖,可避免或减少细胞代谢过程中谷氨酰胺降解积累的氨对细胞的损伤、抑制作用。

细胞特性

- 1) 来源: 中国仓鼠卵巢。
- 2) 形态: 上皮细胞样。
- 3) 含量: $>1 \times 10^6$ 个/mL。
- 4) 污染: 支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性。
- 5) 规格: T75 瓶或者 1mL 冻存管包装。

运输和保存

- (1) 使用含有优质胎牛血清的 2ml 冻存管发送存活细胞。
- (2) 收到细胞后,可在 1000RPM, 常温条件下,离心 5min 后,于洁净操作台弃去上清,加入推荐使用的培养基后转移至 250px 培养皿或者 T75 培养瓶中培养,传代达到细胞生长状态良好时,再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

细胞培养步骤

一. 培养基及培养冻存条件准备:

1) 贴壁生长: 准备 DMEM/F12 培养基, 90%; 优质胎牛血清, 10%。

悬浮生长: 使用专用悬浮生长无血清培养基: EX-CELL CD-CHO CHO Serum-free Medium, Chemically Defined

添加物:

L-谷氨酰胺 (Sigma-Aldrich)

Anti-Clumping Agent (Gibco)

备注 1: CD-CHO CHO Serum-free Medium 请按照培养基配制说明书配制, L-谷氨酰胺配制浓度为 200mM, 工作浓度为 8mM (即稀释 25 倍, 如 500ml CHO Serum-free Medium 中添加 20ml 200mM L-谷氨酰胺, 抗结团剂使用为 1%, 即 500ml CHO Serum-free Medium 中添加 5ml 抗结团剂)

备注 2: 加入谷氨酰胺合成酶的抑制物甲硫氨酸亚砷(methionine sulphoximine, MSX), 可使 GS 基因及与之相连的目的基因一起扩增, 达到提高目的基因表达水平的目的。

2) 培养条件: 气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。 温度: 37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。

3) 冻存液: 90%完全培养基, 10%DMSO, 现用现配。液氮储存。

二. 细胞处理:

网址: www.hfwanwu.com

电话: 400-1016-218

地址: 合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



1) 复苏细胞：将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻，加入 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 250px 皿中，加入约 8mL 培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。

2) 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
2. 加 2mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于 37℃ 培养箱中消化 1-2 分钟，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加少量培养基终止消化。
3. 按 6-8mL/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。
4. 将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8mL 培养基的新皿中或者瓶中。

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法：

方法一：收集细胞，1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀，将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8mL 培养基的新皿中或者瓶中。

方法二：可选择半数换液方式，弃去半数培养基后，将剩余细胞悬起，将细胞悬液按 1: 2 到 1: 3 的比例分到新的含 8mL 培养基的新皿中或者瓶中。

3) 细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。

贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，加入约 1mL 含血清的培养基后加入冻存管中，再添加 10%DMSO 后进行冻存。悬浮细胞冻存时，应将细胞收集，1000RPM 条件下离心 4 分钟，少量保存上清液（防止细胞吸走），加入部分新鲜培养基，加入到冻存管中，在冻存管中加入 10%DMSO 后进行冻存。

使用范围

本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

