

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-氨基亚砜蛋氨酸 (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砜 (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 盘中, 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, 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。

