

CHO-S 仓鼠卵巢细胞
Hamster Ovary Cells ,CHOS

细胞介绍

贴壁生长及悬浮生长均可（用于蛋白表达时，应使用悬浮生长状态，此时细胞生长状态更好，比表面积更高，生物反应器中的传质、传热效率更高，同时也可提高生物反应器空间使用效率。工业上大规模生产单抗，重组蛋白，大部分使用悬浮培养法来生产）

细胞特性

- 1) 来源：中国仓鼠
- 2) 形态：成纤维细胞样
- 3) 含量： $>1\times10^6$ 个/mL
- 4) 污染：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

运输和保存：干冰运输及复苏好存活细胞：

- (1) 1mL 冻存管包装干冰运输，收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。
- (2) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

细胞培养步骤

一. 培养基及培养冻存条件准备：

- 1) 培养基信息：**EX-CELL CD-CHO CHO Serum-free Medium,Chemically Defined**
添加物：L-谷氨酰胺（Sigma-Aldrich）+ Anti-Clumping Agent

备注：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）

- 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：

传代、转染、建库及实验室规模小试方法：

德尔夫提供的 CHO-S 细胞为已驯化的细胞，具有良好的适应悬浮生长及适应无血清培养基生长特性。

传代方法：

1.10cm 盘中培养：使用计数器（计数器或者血球计数板计数）计数，接种密度为 3×10^5 个细胞/ml 接种于提前 37°C 预热的新鲜培养基中（建议培养基取 7-8ml，此时细胞生长状态较好），置于摇床

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



上生长，转速为 120-130rpm，湿度为 70-80%，5%二氧化碳，温度为 37°C。

2. 培养约 2-3 天，细胞密度达到 1×10^6 个活细胞/ml 时，应 1000rpm, 25°C 离心 5min, 离心后计数（此时应稀释），然后接种密度为 3×10^5 个细胞/ml 接种于提前 37°C 预热的新鲜培养基中。细胞数目足够时，可冻存。

也可选择 125ml 或者 250ml 摆瓶中培养细胞。（注意细胞培养液体积一般在总体积的五分之一，如在 125ml 摆瓶中加入 25ml 培养物，应注意在培养细胞时应将瓶盖稍微拧松，以便于气体交换，同时也不宜拧得过松，防止细胞污染）

转染方法：

在连续 5 代细胞密度未超过 2×10^6 个活细胞/ml 时，可以使用 FreeStyle Max 转染试剂 (Gibco) 在 CD CHO Serum-free Medium 中直接转染。（注意：Anti-Clumping Agent 会干扰 FreeStyle Max 转染试剂转染效率，同时也会干扰其他脂质体型转染试剂的转染效率）

建库方法：

若需要建库，可将细胞接种于 125ml 摆瓶中（接种密度为 3×10^5 个细胞/ml，总体积为 25ml），此方法同样适用于稳定表达所需要蛋白的细胞株的建库工作。建库时，需要先建初级库 (master bank)（一般为 10 支，每支细胞总数不少于 4.5×10^7 个细胞），此步骤结束后，从冻存的初级库中取出一支复苏，按照同样步骤建次级库 (working bank)（相同的，一般为 10 支，每支细胞总数不少于 4.5×10^7 个细胞）。

实验室规模小试方法：

将挑选出的稳定细胞株从 96 孔板到 24 孔板到 6 孔板到 10cm 培养皿中逐级扩大培养后（此时需要注意在培养过程中应及时保种，以防止后续步骤出现污染，及应对可能的表达量衰退现象）以 3×10^5 个细胞/ml 接种于 125ml 摆瓶中，转速为 120-130rpm，温度为 37°C，湿度为 70-80%，连续培养一周，每天取样做出相应的细胞生长曲线，细胞活率曲线，蛋白表达曲线，可根据实际情况，每天取样测出培养基中葡萄糖含量，以便决定是否需要补加葡萄糖，同时可使用 CHO Feed Bioreactor Supplement 作为细胞发酵中补料，同时做出相应的细胞生长曲线，细胞活率曲线，蛋白表达曲线，为中试放大补料添加做出合理数据支持。

注意事项：

- 1、所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
- 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。

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。

