

BD Select™ CHO 培养基

技术指南

Select CHO培养基是完全无动物源、无血清的即用型培养基，配方含有植物蛋白水解物以提高产量。该培养基适用于CHO悬浮培养的细胞生长、抗体和融合蛋白的生产。Select CHO培养基能用于各种容器，如T形瓶、摇瓶、滚瓶，以及生物反应器。BD Select CHO培养基可用于科研或工业生产。该培养基的研发筛选了大量的水解物以提高CHO细胞的蛋白产量。

该培养基适用于CHO细胞的悬浮培养。BD Select CHO同样适用于筛选系统，例如谷氨酸合成酶（GS）系统，该系统不需要次黄嘌呤/胸腺嘧啶（HT）缺陷型培养基的筛选压力。

说明

- 无动物源，无血清
- 含有人重组胰岛素
- 不含L-谷氨酰胺；推荐添加浓度：4mM
- 不含聚醚®F-68；推荐添加浓度：0.1% w/v
- 不含酚红
- 含有次黄嘌呤和胸腺嘧啶
- 低内毒素（≤5.0EU/mL）
- pH：7.1 +/- 0.2
- 渗透压：330-370 mOsm/kg
- 澄清，暗黄色溶液

产品储存

- 避光保存以保持稳定性
- 2-8°C保存（勿冷冻）

培养建议

- 为了避免因温差而影响培养效果，请在使用前
- 将培养基预热至培养温度（37°C）
- 细胞接种量为 5×10^5 细胞/ml
- 每2-3天进行传代，使细胞维持在对数生长期
- 培养应在37°C，5%CO₂下进行，或在细胞系需要的特定条件下进行



产品说明	货号
BD Select™ CHO液体培养基	220253
体积：1L 瓶装	
包装大小（袋装）可根据客户需求定制	

驯化细胞至BD Select CHO培养基

本驯化指南描述了如何将CHO细胞从原来的培养基中转移到BD Select CHO培养基中。有些细胞很容易适应新的培养基，然而有些细胞却难以适应新的培养环境。另外，如果培养系统也同时发生变化的话，细胞驯化将会更加具有挑战和有难度。因此我们建议先完成培养基转换，然后如果需要的话，再改变生长系统。

使用通气系统，如滚瓶，转瓶，摇瓶等，BD Select CHO培养基效果最好。但是如果需要的话，也可以适应静态系统。T形瓶或小体积滚瓶易于操作，并且培养基用量少。如果使用封闭（不通风）系统，可选用CO₂。接种时最好不要离心培养基，而是从现有培养基中取一部分接种到新培养基中。这样做能让细胞产生的生长因子协助细胞适应新培养基。



帮助人类健康生活
Helping all people live healthy lives

BD Select™ CHO 培养基

直接驯化

直接驯化适用于那些可能容易适应新培养基的细胞。在对数生长期用Select CHO直接将原培养基稀释至 5.0×10^5 细胞/ml。在此步骤中，**不建议细胞离心和完全除去原培养基**。当活细胞密度达到 $1.5 - 2.0 \times 10^6$ 细胞/ml，或细胞处于对数中-后期时，再次以 5.0×10^5 细胞/ml 传代细胞。每3-4天传代一次，至少重复3次。如果驯化过程中活细胞少于80%，或4次传代后细胞分裂时间异常，请按照下面的方法进行连续驯化。

连续驯化

采用连续驯化时，从原有培养基完全驯化至BD Select CHO最好经过4个步骤。每一个步骤中，细胞在混合培养基中生长至少3天，直到细胞达到对数生长中-后期。如果培养中分裂时间变长，请在相同的混合培养基中以同样的稀释过程进行多次传代。在当前混合培养基中继续进行细胞传代至少3次，才能达到完全驯化和生长。建议在驯化进行到50%时建立细胞库以备不时之需。

驯化步骤	转接密度	培养条件	进行下一步的标准
25% Select CHO 75%原培养基	5.0×10^5 细胞/ml	至少培养3天，直到细胞达到对数生长中-后期	3次传代培养维持正常的分裂时间，以及 $\geq 90\%$ 活性
50% Select CHO 50%原培养基	5.0×10^5 细胞/ml	至少培养3天，直到细胞达到对数生长中-后期	3次传代培养维持正常的分裂时间
75% Select CHO 25%原培养基	5.0×10^5 细胞/ml	至少培养3天，直到细胞达到对数生长中-后期	3次传代培养维持正常的分裂时间
100% Select CHO	5.0×10^5 细胞/ml	在100% Select CHO中允许传代3-4次，然后建立细胞库并转移到生产系统。	多次传代培养维持正常的分裂时间，以及不低于90%的活性，即可认为细胞驯化完成

驯化过程中可以监测生产情况；但是当细胞置于通气生产系统中时，驯化过程中的产率并不能代表BD Select CHO 培养基的实际生产效果。

图1: CHO细胞在BD Select CHO 培养基中生长，摇瓶培养，37°C，5%CO₂。活细胞密度用Vi-Cell™ 细胞活性分析仪检测。

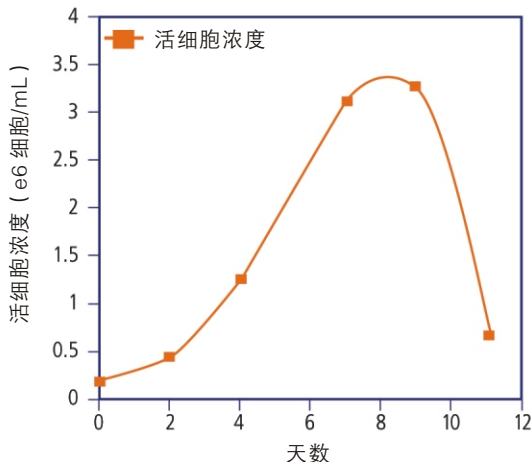
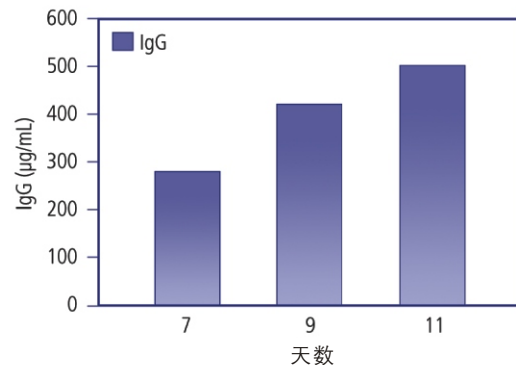


图2: BD Select CHO 培养基中CHO细胞的IgG产量。用蛋白A检测产量。



碧迪医疗器械(上海)有限公司
上海市南京西路1168号
中信泰富广场30楼, 200041
Tel: (021)32104610-114
Fax: (021)52925193

北京代表处
北京东城区东中街9号
东环广场A座7层7A单元, 100027
Tel: (010)58139000-9158
Fax: (010)58139191

BD Cell MAb 培养基

技术指南

BD Cell Mab Medium Quantum, Yield
基础的杂交瘤培养基
Catalog No. 220511 —1 Liter Bottle

驯化程序

有些细胞系会很容易适应BD Cell单克隆抗体培养基,但大多数细胞则需要一个简短的适应过程。如果细胞系能先在BD Cell基础培养基中先进行适应,再转到BD Cell无血清或无动物源培养基,生产效果会更好!并且,培养基适应过程最好在细胞换到新系统之前进行,这样受到的影响最小。

当细胞在诸如滚瓶、转瓶、Celline Flask等通气系统用BD Cell培养基培养效果最好。但驯化过程也可以在固定系统中进行。T-Hask方瓶或小滚瓶容易操作,培养基用量少。如果是密封系统,还可以加入CO₂。

接种细胞时最好从原来的培养系统中取出一整块体积,接到新培养基中,因为原培养基中的细胞自分泌的生长因子能够帮助细胞在新培养基中更好的适应。同样的,1/2或1/3的比例要比1/5,1/10的比例的接种体积能更好的支持于细胞在对对数生长期生长,不建议离心分离细胞接种。

首先,细胞在正常的培养基中生长,直到细胞能稳定,活跃的生长和分裂。当细胞生长达到每毫升 4×10^5 至 1×10^6 细胞,并有大于80%的细胞活率时,才能开始适应过程。

开始适应程序,以 2×10^5 细胞/ml细胞密度,在50/50当前的培养基和BD Cell培养基中混合培养。你的培养基可以很少,只要能提供合适的通风就行。一个50ml体积的培养基在一个小型的(250ml Corning存储瓶)转瓶中会生长得很好。如果你用T型瓶进行驯化,那你需要不停的移动。使用BD Cell培养基用于杂交瘤培养中,CO₂的使用是随意的。

你需要根据细胞的适应速度,使细胞在每个混合培养基中培养2-3代。至少2天传一次细胞。

继续适应过程,以 2×10^5 细胞/ml细胞密度,在25%当前的培养基和75%BD Cell培养基中传代培养,最后在100%BD Cell培养基中培养。当细胞活率达到80%以上时,细胞就可以用于生产的需要。生产前要传2~3次细胞保证细胞活性稳定在80%以上。

在适应过程中,每天要检查细胞的密度和活率。最好要避免细胞生长过度,所以当细胞生长快速时,要调整细胞的密度为 2×10^5 细胞/ml。*但是,不要把细胞密度调得太低。(如果在周末之前传细胞,细胞密度可最低调整至 1×10^5 细胞/ml)

* 调整细胞密度

在细胞的生长过程中,向细胞继续添加培养基比细胞形成沉淀后再做成悬浮液好。这样可以维持细胞生长的条件并帮助细胞适应新的培养基。



BD

帮助人类健康生活

Helping all people live healthy lives

BD Cell MAb 培养基

BD Cell Mab Medium, Serum Free, Animal Free

无血清 / 无动物源的杂交瘤培养基

Catalog No. 220513—1 Liter Bottle

驯化程序

用血清连续减少的办法,从 10% 到 5% 到 2.5% 到 1%, 0.5% 到不含血清,细胞被培养 14 到 21 天。培养的时间根据细胞适应的情况而定。通常,血清的浓度越低,所需的时间越长。对细胞经常进行查看,避免生长密度低于 $2 \times 10^5/\text{ml}$ 。

按 BD Cell 基础培养基的驯化程序进行。



碧迪医疗器械（上海）有限公司

上海市南京西路1168号

中信泰富广场30楼, 200041

Tel: (021)32104610-114

Fax: (021)52925193

北京代表处

北京东城区东中街9号

东环广场A座7层7A单元, 100027

Tel: (010)58139000-9158

Fax: (010)58139191

BD Cell Mab Medium FAQs

- Q:** BD Cell MAb Medium用葡萄糖作为碳源么?

A: 是, BD Cell MAb Medium Animal Free (220513)含6.5 g/L 葡萄糖, 作为碳源.
- Q:** 培养基中不加谷氨酰胺是为了延长培养基的效期么?

A: 不添加谷氨酰胺有两个原因:

 - 一些宿主细胞需要在无谷氨酰胺的环境下生长。
 - 即使在4°C条件下谷氨酰胺也会分解成氨, 对培养基产生负面影响。
- Q:** 大规模培养杂交瘤细胞时通过什么来观测培养基的消耗情况?

A: 推荐检测的参数有: 葡萄糖, 乳酸, 氨, 谷氨酰胺。用试剂盒或是如YSI 或Nova Bioprofile 等仪器。如果有HPLC 的条件, 建议还要检测培养基中的其他氨基酸。
- Q:** 不含谷氨酰胺的培养基中能否直接添加谷氨酰胺?如果可以, 何种浓度添加至不含谷氨酰胺的培养基中(BD目录号是220513), 您能推荐质量很好的谷氨酰胺吗?

A: 是的, 可以添加谷氨酰胺.如果是添加在220513 中推荐浓度是13mM (2 g/L)
- Q:** BD Cell MAb Medium 中有葡萄糖么? 如果有浓度是多少?

A: BD Cell MAb Medium,Quantum Yield (220511)含6.5g/L 葡萄糖浓度。
- Q:** BD Cell 培养基中免疫球蛋白的含量是多少?

A: BD Cell MAb Medium,Quantum Yield (220511)不含牛源白蛋白。
BD Cell MAb Medium,Serum Free (220509)含BSA, 也含微量的免疫球蛋白。
- Q:** BD Cell Serum Free (220509)培养基中含有胰岛素么?

A: 是的, 该产品含牛源胰岛素10 μg/ml。
- Q:** BD Cell 三种培养基中"free Biotin" 是什么意思?

A: 是指生物素含量0.102mg/L, 含量较低。
- Q:** BD Cell 培养的成分为什么?(如它包括…)

A: 配方是保密的。
- Q:** BD Cell 培养基中含L- 谷氨酰胺吗?

A: 是的。
- Q:** BD Cell 培养基是完全培养基吗?

A: BD Cell QY 是化学限定的基础培养基, 需要添加血清或蛋白水解物。BD Cell SF 含有BSA 需要添加诸如ITES 等添加剂。BD Cell AF 含植物蛋白水解物可以定义为完全培养基。
- Q:** 我能否在BD Cell Quantum Yield 中减少使用血清的量?

A: BD Cell QY 根据细胞系的营养需求通常添加的FBS 浓度为5% 或10%。较低的血清浓度会降低细胞的表现, 需要添加一定的血清替代物作为补充(如蛋白胨、生长因子等)
- Q:** 在BD Cell 培养基中酚红和HEPES 缓冲液的浓度为多少?

A: HEPES 浓度在3-4 g/L。酚红浓度小于1g/L。
- Q:** 无血清的BD Cell 培养基中蛋白质的含量是多少?

A: 1.1g/L.
- Q:** 无动物源的BD Cell 培养基中含有什么蛋白质?

A: BD Cell AF培养基含有大豆胨(0.3%), 它是蛋白质的水解产物而不是完整的蛋白质。蛋白胨更多地被认为是含有碳水化合物, 氨基酸、维他命、微量元素的多肽混合物。
- Q:** 无血清的BD Cell 培养基中含抗原吗?无动物源的BD Cell 培养基中含抗原吗?

A: BD Cell SF 含有BSA 所以含有微量的IgG。
BD Cell AF 是完全非动物源成分所以不含IgG。
- Q:** BD Cell 培养基出厂前要做哪些参数检测?

1) 外观, 25°CpH, 渗透压, 内毒素, 支原体, 灭菌, 细胞培养值。
- Q:** BD Cell 培养基的产品有效期是何时?

A: 大约9 个月。
- Q:** BD Cell 无动物源中含有的蛋白质分子是什么?

A: BD Cell AF 培养基中的完整蛋白质是重组人胰岛素。
- Q:** 为何培养基变成黄色?是否意味着被污染了?

A: 所有的培养基都有缓冲系统, 大多数含有酚红, 它会使培养基在pH 中性时呈红色到红橙色, 在酸性pH 条件下则显黄色。当然在培养基污染的情况下由于微生物大量产酸也会使培养基变黄。

BD Cell Mab Medium FAQs

21. Q: 我如何使用BD Cell 培养基来适应我的细胞系?
A: 我们推荐渐进式的驯化过程, 逐渐降低原来培养基和血清的比例。
22. Q: 在适应过程中, 我能否将细胞分开至低密度, 以在步骤中节省时间?
A: 不可以。
23. Q: 我能否在适应步骤中离心细胞?
A: 不可以。
24. Q: 能否直接将适应含血清的培养基中的细胞转至无动物源的细胞中?
A: 这要取决于细胞系的适应性。可以尝试在BD Cell AF 培养基中进行渐进的适应。
25. Q: BD Cell 培养基能够用于常规的细胞保持或只是仅仅用于生产?
A: BD Cell 培养基可以进行细胞培养日常维护, (加入血清或血清替代物)也可以进行生产。
26. Q: 我能在BD Cell 培养基中通过细胞生长制备种子细胞库吗?
A: 可以, 但要加入适量的保护细胞的DMSO。
27. Q: 何种冷冻介质推荐在BD Cell 无血清培养基和BD Cell 无动物源性培养基中?
A: 已适应培养基的细胞可以在培养基中加浓度为10%v/v 的DMSO 进行冷冻。
28. Q: 我能够直接在BD Cell 培养基中解冻我的已适应了BD Cell 的细胞吗?
A: 可以。
29. Q: 滚瓶中应用多少BD Cell 培养基?
A: 每5cm² 的面积需要1mL 的培养基。也可以根据实际需求进行适当的加减。
30. Q: 滚瓶平台应设置为何种速度?
A: 客户自己决定。
31. Q: 应使用何种CO₂ 浓度?
A: 浓度为5%
32. Q: 当在T 型瓶中使用BD Cell 时需要通风帽吗?
A: 推荐使用。
33. Q: BD cell 最适合什么生产方法?
A: 杂交瘤细胞生产单克隆抗体。
34. Q: 细胞能否直接在中空纤维系统或搅拌釜中适应?
A: 不可以。
35. Q: BD Cell 培养基能用于CHO 细胞吗?
A: 可以, 通过细胞系的需求来决定, 如需要可对培养基进行适当的补加。
36. Q: BD Cell 培养基能用于杂交瘤以外的其他细胞吗?
A: 可以, 但先要通过评估试验确定细胞对培养基的适应性。
37. Q: BD cell 培养基能用于融合实验吗?
A: 是的。
38. Q: 在我的细胞中哪一种BD Cell 最适于使用。
A: 每个细胞系对培养基的需求都是不同的, 只有通过对一系列的培养基进行筛选才能找到最合适细胞系生长和表达需要的配方。
39. Q: 我使用BD Cell 培养基生产抗体能看到有区别吗?
A: 培养基配方、组分, 培养方法和放大条件(物理及化学条件)都会对终产品的质量产生影响。所以不管用什么培养基都需要对最终产物进行试验检测其有效性和完整性。



碧迪医疗器械(上海)有限公司
上海市南京西路1168号
中信泰富广场30楼, 200041
Tel : (021)32104610-114
Fax: (021)52925193

北京代表处
北京东城区东中街9号
东环广场A座7层7A单元, 100027
Tel : (010)58139000-9158
Fax: (010)58139191

Select™ CHO Medium FAQs

常见问题解答

1. 我的细胞在ABC培养基中生长的很好，为什么我还要尝试BD的培养基？
 - a. Select CHO 是一种新型高效的培养基，它对CHO细胞的蛋白表达进行了针对性的优化（参见手册中的图表）。
2. 我的细胞驯化到Select CHO中需要多长时间？
 - a. 细胞系不同，时间会有所差异。通常是2-4周。
3. Select CHO 含有谷氨酰胺、聚醚或HT吗？
 - a. Select CHO 不含谷氨酰胺和聚醚，但是含有HT。
4. Select CHO 和其它品牌的培养基相比，效果如何？
 - a. 在摇瓶中效果提高达300% - 参见手册。
5. 能否提供不含HT的Select CHO？它是否适合DHFR筛选？
 - a. 我们正在研发不含HT的 Select CHO 培养基 - 初步研究表明，HT培养基支持DHFR筛选。我们目前正在发放样品。
6. 如果培养基已经含有植物水解物，我是否还需要添加其它蛋白胨？如果需要，应添加哪种？如何添加？
 - a. 多数情况下Select CHO 不需要额外添加蛋白胨。但是可以加入除蛋白胨外的其它添加物。
7. 你们的培养基在不添加FBS的情况下，是否适用于转染、筛选和扩增？如果适用，可否为我们提供指南 (DHFR/GS)？
 - a. 我们还没有对Select CHO 在转染等特定条件下的培养进行测试。
8. 你们的培养基只有液体，还是以后会有干粉产品？如果有，什么时候？
 - a. 目前 没有干粉Select CHO培养基。但是可以定制干粉。
9. 内毒素水平是多少(EU/ml)？
 - a. 最大值≤5EU/mL。具体批次详见COA (质检报告)。
10. Select CHO 含有非动物源水解物，那么它的保质期是多久？和化学限定培养基相当吗？
 - a. 目前是6个月 - 我们期望能够通过实时的稳定性测试，将保质期延长到18个月。
11. 培养基中的水解物浓度是多少？
 - a. 这是专利保密信息。
12. CHO细胞系在Select CHO 中的生长数据。
 - a. 请参考手册。
13. 培养基的总蛋白浓度是多少（人胰岛素和/或其它蛋白）？
 - a. 这是专利保密信息。
14. 水解物中的HT对培养基的HT浓度影响有多大？（对于CHO-DHFR或基因扩增用户，如果我们发放的样品Select CHO w/o HT，水解物是会分解一小部分HT）
 - a. Select CHO 培养基不受任何其它微量HT的影响，因为它本身就富含HT。不含HT的培养基同样不受影响，因为水解物中仅含极其微量的HT（仅有2%）。
15. 培养基一批的最大量是多少？
 - a. 1L瓶装培养基的一批为2000L。200L袋装培养基的一批为10,000L。
16. 货期是多长时间？
 - a. 1L瓶装培养基货期为6-8周，定制产品需要8-12周。
17. 如何运输（温度，防启封皮等）？
 - a. 目前在美国国内我们采用常温运输。美国国外的运输我们使用冰袋封装。
 - b. 定制包装采用冷藏集装箱进行海运。
18. 我和谁联系获取法规、QC和技术文件？
 - a. 请和销售人员联系，他会将您的要求转达给相应的技术人员。
19. 没有订单的情况下，能否定制生产？
 - a. 不能。



碧迪医疗器械（上海）有限公司
上海市南京西路1168号
中信泰富广场30楼，200041
Tel : (021)32104610-114
Fax: (021)52925193

北京代表处
北京东城区东中街9号
东环广场A座7层7A单元，100027
Tel : (010)58139000-9158
Fax: (010)58139191