CHO细胞培养基补料CD3Feed-K & C使用指南（1.2版）

珠海恺瑞生物科技有限公司研发生产的细胞培养基补料CD3Feed-K & C是化学限定无血清培养基补料，不含蛋白和蛋白水解物质，主要用于提高使用珠海恺瑞无血清培养基培养的CHO、杂交瘤等高密度悬浮培养细胞的蛋白表达量。不同类型的细胞以及表达不同蛋白的同类型细胞补料添加方式都略有不同，用户可参考如下基本使用方法进行测试，最终摸索出最优化的使用方案。说明书的第三部分是我们总结的使用经验。 **请仔细阅读，特别留意黑体部分**。

CD3Feed-K & C已含葡萄糖及谷氨酰胺，若用户因工艺开发需要使用不含葡萄糖及（或）谷氨酰胺的补料，请与我们联系。用户在工艺开发过程中需根据自身经验或细胞培养过程中葡萄糖及谷氨酰胺（或力肽（L-Alanyl-L-Glutamine））的消耗情况酌情补充。葡萄糖及力肽可配置成浓缩液，无菌过滤后可在适当温度环境下长期储存。

# 成份说明

珠海恺瑞提供液体和固体（粉末）两种类型CD3Feed-K & C补料，各含K和C两款，分含不同营养成分。使用前两个固体补料成分需单独配制成液体后，再分别加入培养液中。

K液：碱性溶液，内含中性不溶氨基酸

C液：内含葡萄糖及其它不同个性化补料添加成分

# 添加比例（推荐使用范围）

每次添加比例范围如下：

* K液添加比例（补液体积：细胞液体积）：1：100 到 1：300
* C液添加比例（补液体积：细胞液体积）：1：20 到 1：80

# 建议试用工艺

首先把正常稳转的克隆CHO细胞离心收集，弃去培养液上清， 用KDCHO-CD3培养液将细胞直接重悬，按1x106 cells/ml 接种摇瓶培养**（37℃， 5% CO2）。**请勿将KDCHO-CD3与其它厂家的培养液混合以免产生沉淀。每日进行细胞计数，绘制生长曲线。在细胞生长到4x106 cells/ml后直接用KDCHO-CD3培养液稀释进行传代培养。与市面上大多数CHO 培养液不同，KDCHO-CD3培养液不含Insulin或IGF-LR3。如果您们的细胞对Insulin或IGF-LR3有依赖性，可以自行添加。**供应商通常不会标注培养液是否含有IGF1-LR3**。

待细胞生长恢复正常后进行工艺探索实验。为了缩短实验周期，细胞按照2x106 cells/ml接种摇瓶进行培养（37℃， 5% CO2）。每日计数。 **待细胞密度达到7x106 cells/ml之后开始补料添加（每毫升细胞培养添加 3.4µl K液和15µl C液）**。将细胞放回摇床进行培养。 然后每天按同样比例进行添加。如果细胞密度超过1x107 cells/ml, 则需要同时**额外补加葡萄糖**，依照细胞密度每107 cells/ml、每天、每升培养补加1g葡萄糖（或根据葡萄糖残留量进行补加）。

**培养温度更替（Temperature Shift）**对蛋白质表达有很大影响。根据我们的经验，在细胞密度达到**1.5 x107 cells/ml 与2 x107 cells/ml** 之间时将培养移到**32℃**条件下进行培养可以大幅延长细胞存活时间和蛋白质产量。**（整个生产周期在8-15天左右，但需根据稳定细胞株的生长周期选择合适收样时间）**

在工艺开发过程中，用不同或同一种细胞构建的稳定表达细胞株常常对培养液补料的添加量及添加方式要求不同，客户需根据细胞特点及自身经验测试和摸索最佳补料添加方式。

如有问题请立即联系技术支持。