

产品名称:	QuaCell® CHO CD04培养基, 悬浮, 化学成分限定
货号:	A12004
规格:	10L、50L、定制
形式:	干粉
储存温度:	2~8° C
有效期	24个月 (生产日期见产品包装)

简介

QuaCell® CHO CD04 培养基可为中国仓鼠卵巢细胞(CHO 细胞)的高密度增殖提供丰富的营养成分。此产品是一款无血清、无动物成分、化学限定培养基, 适用于悬浮培养 CHO 细胞以表达抗体及蛋白产物。只需简单的驯化甚至不用驯化, 就可从含血清培养基或其他无血清培养基中, 直接传代接种至 QuaCell® CHO CD04 培养基中。此培养基配方中不含次黄嘌呤、胸苷及 L-谷氨酰胺, 适合二氢叶酸还原酶、谷氨酰胺合成酶 (GS) 筛选系统。

组分

L-谷氨酰胺	不含, 用前按需添加
葡萄糖	6.7 g/L
次黄嘌呤&胸苷	不含
酚红	不含
碳酸氢钠	不含
水解产物	不含

产品用途

在处理或补充培养基时使用无菌技术。本产品用于研究或进一步制造使用。

警告: 不用于人类或动物治疗用途。超出规定范围的使用可能会触犯当地法律。

安全信息

阅读物料安全数据表 (MSDS) 并依据相关的安全操作规范, 佩戴适当的护目镜, 洁净服, 口罩和手套等。

用前准备

• 配制方法

1. 将终体积 90% 的注射用水加入到合适干净的容器中, 调节水温至 25~35°C;
2. 缓慢加入 21.60 g/L 的 QuaCell® CHO CD04 干粉培养基, 搅拌混合 10 分钟;
3. 缓慢加入 5N NaOH 调整 pH 到 9.05±0.10, 搅拌 30 分钟;
4. 缓慢加入 5N HCl 调整 pH 到 7.00±0.10, 搅拌 10 分钟;
5. 缓慢加入 1.90 g/L 的 NaHCO₃, 搅拌 10 分钟直到溶解;
6. 加入 0.90 g/L 的 NaCl, 搅拌 10 分钟直到溶解;

7. 使用 5N 的 HCl 或者 NaOH 将 pH 最终调整到 7.00±0.10;
8. 加入注射用水定容至所需的最终体积, 搅拌混合均匀;
9. 通过 0.20 μm 孔径滤膜正压过滤除菌。

- QuaCell® CHO CD04 培养基的使用需要无菌
- 产品不含 L-谷氨酰胺; 用于正常表达 GS 基因的宿主细胞的增殖培养时, 建议在使用前添加 4mM L-谷氨酰胺; 根据细胞株 GS 基因编辑情况, 可按需调节 L-谷氨酰胺浓度。
- 不推荐使用抗生素。
- 开封后未用完的培养基应进行分装, 使用封口膜封口, 在 2~8°C 避光干燥保存。

产品外包装副标提供一组印有产品信息的不干胶便签, 可撕下使用, 便于分装标记及实验记录。

培养条件

培养基: 完全的 QuaCell® CHO CD04

细胞系: CHO cells

培养类型: 悬浮

培养容器: 摇瓶/TPP/反应器

温度范围: 37°C±0.5

培养箱气体要求: 5~8% CO₂ 的加湿培养

注意: 确保适当的气体交换和最小化的曝光培养。

细胞复苏

1. 在 37°C 水中快速解冻 (<2 分钟) 冻存管中的细胞液;
2. 将细胞液转移至 15 mL 离心管中, 加入 10mL 预热的 QuaCell® CHO CD04 培养基, 1000rpm 离心 3 分钟, 丢弃上清液, 使用 5 mL QuaCell® CHO CD04 培养基重悬, 计数;
3. 将冷冻管的全部细胞液转移到装有 15 mL 预热的完全 QuaCell® CHO CD04 培养基的 125 mL 摇瓶中, 稀释至所需细胞密度;
4. 在含有 5~8% CO₂, 37°C, 加湿的培养箱或摇床进行培养, 培养时拧松瓶盖或使用通气盖以进行气体交换;
5. 细胞复苏后培养 2~5 天处于对数生长中期时传代。在进行其它实验之前, 复苏的细胞至少应进行三次传代。

传代培养

1. 使用自动细胞计数仪或其它计数仪器进行细胞计数，根据需要的接种密度或者按比例接种传代；
2. 种子瓶接种密度为 $3 \sim 5 \times 10^5$ cells/mL；
3. 继续置于 37°C 、 $5 \sim 8\%$ CO_2 的培养摇床中培养，通常 2 ~ 3 天后可进行下一次传代。

细胞驯化

QuaCell® CHO CD04 培养基通常在不经过驯化的情况下都能够支持 CHO 细胞快速生长和表达。少数特殊细胞需要经过一个简单的顺序驯化过程来适应。

从常规血清培养体系或其他无血清培养基向 QuaCell® CHO CD04 驯化之前，务必确保细胞处于对数生长中期且活率 > 90%。

直接接种

将悬浮培养细胞转移到 QuaCell® CHO CD04 培养基中，如下：

1. 1000rpm 离心细胞悬浮液 3 ~ 5 分钟。吸出并丢弃上清液；
2. 以 $3 \sim 5 \times 10^5$ cells/mL 的活细胞密度将细胞沉淀重悬于预热的完全 QuaCell® CHO CD04 培养基中并转移至合适的培养容器；
3. 放回摇床并监测细胞生长。

注意：如果使用直接接种方法观察到细胞生长不理想，则使用顺序驯化方法。

顺序驯化

按照以下程序进行细胞悬浮培养的步骤：

1. 适应过程中使用 $4 \sim 5 \times 10^5$ cells/mL 的接种密度；
2. 逐步调整 QuaCell® CHO CD04 培养基与原始培养基的细胞培养比例（25: 75, 50: 50, 75: 25, 90: 10, 然后是 100% QuaCell® CHO CD04 培养基）。每个步骤视情况可多次传代；
3. 在 100% QuaCell® CHO CD04 培养基中几次传代后，活细胞计数应超过 $1 \sim 2 \times 10^6$ cells/mL，培养 4 ~ 6 天内存活率 $\geq 85\%$ 。在这个阶段，培养被认为适应于 QuaCell® CHO CD04 培养基。在驯化的最后阶段，接种密度可以降低到 $2 \sim 3 \times 10^5$ cells/mL。

冷冻保存

准备好所需数量的细胞，在活率 > 90% 的对数生长中期阶段进行冻存。

1. 配制冷冻保存培养基，并储存于 2°C 至 8°C 直至使用；
2. 确定活细胞密度，并计算出冷冻保存培养基所需的体积，使最终冻存密度为 $1 \sim 3 \times 10^7$ cells/mL；
3. 通过 1000rpm 离心 3 ~ 5 分钟收获细胞，将细胞沉淀悬浮在预定体积的 2°C 至 8°C 的冷冻保存培养基中；

4. 根据规格（即 2 mL 冷冻管可放置 1 ~ 1.5 mL 细胞液）立即将细胞悬浮液的分装到冻存管中；
5. 按照标准程序（每分钟降低 1°C ），在自动或手动控制速率冷冻设备中实现冷冻保存。将冷冻细胞转移到液氮中，存储在 -200°C 至 -125°C 。

注意：在液氮中储存 24 小时后取出一只检查冷冻保存细胞的活率及其它指标。请参阅“细胞复苏”。

Fed-batch 培养建议

- 建议根据 QuaCell® FEED 说明书推荐策略添加补料。
- 进行预实验，以 $3 \sim 5 \times 10^5$ cells/ml 的密度将细胞接种到 QuaCell® CHO CD04 培养基中，进行分批培养。若细胞生长速度较快，在 Day3 时补给葡萄糖。绘制该株细胞在培养基中的生长曲线。
- 将细胞以 $3 \sim 5 \times 10^5$ cells/ml 的密度接种到 QuaCell® CHO CD04 培养基中进行 N-1 代培养，参照相关工艺数据以及预实验中得到的结果，在细胞处于对数生长期时，以适当密度（一般接种密度为 $0.5 \sim 1.5 \times 10^6$ cells/ml）接种到 QuaCell® CHO CD04 培养基中进行第 N 代培养，每天取样计数，以确定补料策略。
- Day3 开始测定葡萄糖含量，少于 3.0 g/L 时补到 6.0 g/L。Day14 或者细胞活率小于 60% 时收获，检测表达量及其他数据进行分析。
- 如果项目已经有比较成熟的培养工艺，建议参照原工艺进行试用，如果是工艺开发阶段，建议使用 DOE 的方法来测定合适的培养参数，得到更好的结果。

相关产品

货号	中文品名
A11002	QuaCell® CHO CD02 培养基, 液体
A12002	QuaCell® CHO CD02 培养基, 干粉
A11004	QuaCell® CHO CD04 培养基, 液体
A11902	QuaCell® CHO FEED02 补料, 液体
A12902	QuaCell® CHO FEED02 补料, 干粉

标签图例

		
过滤除菌	有效期至	储存温度
		
批号	干燥保存	避光保存
		
仅供研究	GMP 制造	不干胶便签