

产品名称:	CHO CD Medium 13
货号:	JWD1201
规格:	10L、100L
形式:	干粉
储存温度:	2°C ~ 8°C
有效期:	24个月 (有效期见产品包装)

简介

CHO CD Medium 13 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、无动物成分的化学限定培养基,适用于悬浮培养 CHO 细胞以表达抗体及蛋白产物。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 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 80% 的注射用水加入到合适干净的容器中, 调节水温至 25°C ~ 35°C;
2. 缓慢加入 21.25 g/L 的 CHO CD Medium 13 干粉, 搅拌混合 10 分钟;
3. 缓慢加入 5 mol/L NaOH 调整 pH 到 9.00±0.10, 搅拌至少 30 分钟;
4. 缓慢加入 6 mol/L HCl 调整 pH 到 7.00±0.10, 搅拌 10 分钟;
5. 缓慢加入 3.575 g/L 的 NaHCO₃, 搅拌 10 分钟直到

溶解:

6. 使用 6 mol/L 的 HCl 或者 5 mol/L NaOH 将 pH 最终调整到 7.00±0.10;
7. 加入注射用水定容至所需的最终体积, 搅拌混合均匀, 测量最终 pH, 渗透压 280~340 mOsm/kg;
8. 通过 0.20 µm 孔径滤膜正压过滤除菌。

注意:

1. 注意控制初始水温;
2. 本品为二氧化碳/碳酸氢钠缓冲体系, 如在配液过程中搅拌时间过长或在生物反应器未进行 pH 控制的条件下进行长时间的通气, 会导致出现 pH 值缓慢上升的情况;
3. 以上配液参数 (如搅拌时间等) 供研发小规模配液参考。大规模生产配液时, 请根据配制容器的搅拌能力设置适当的配液参数, 以便培养基干粉充分溶解。

CHO CD Medium 13 的使用需要无菌

- 产品不含 L-谷氨酰胺; 使用前按需添加 L-谷氨酰胺;
- 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。

培养条件

培养基: CHO CD Medium 13

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°C

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. 细胞从液氮罐中取出, 迅速在 37°C 水浴中快速解冻至细胞融化, 过程约 1~2 分钟;
2. 将细胞液转移至 5 mL 预热的 CHO CD Medium 13, 吹打均匀; 1000 rpm 离心 5 分钟, 丢弃上清液; 使用 5 mL CHO CD Medium 13 重悬;

- 使用自动细胞计数仪或其它计数仪器进行细胞计数, 根据需要的细胞密度吸取细胞液至 125 mL 摇瓶, 加入适量 CHO CD Medium 13, 使细胞达到所需复苏密度; 建议复苏密度为 $(3 \sim 5) \times 10^5$ cells/mL;
- 在含有 5% ~ 8% CO₂, 37°C 的培养箱或摇床进行培养;
- 细胞复苏后培养 2 ~ 5 天处于对数生长期时传代。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

- 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计算所需细胞原液体积, 建议接种密度为 $(3 \sim 5) \times 10^5$ cells/mL;
- 将所需量细胞原液加入到含有 CHO CD Medium 13 的摇瓶中, 使细胞达到所需接种密度;
- 继续置于 5% ~ 8% CO₂, 37°C 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

CHO CD Medium 13 通常在不经驯化的情况下也能够支持 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 CHO CD Medium 13 驯化之前, 务必确保细胞处于对数生长期且活率 > 90%。

直接接种

将悬浮培养细胞转移到 CHO CD Medium 13 中, 如下:

- 1000 rpm 离心细胞悬浮液 5 分钟。吸出并丢弃上清液;
- 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好的完全 CHO CD Medium 13 中并转移至合适的培养容器;
- 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;

- 适应过程中使用 $(4 \sim 5) \times 10^5$ cells/mL 的接种密度;
- 逐步调整 CHO CD Medium 13 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% CHO CD Medium 13)。每个步骤视情况可多次传代;
- 在 100% CHO CD Medium 13 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 ≥ 85%。在这个阶段, 培养被认为适应于 CHO CD Medium 13。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。

Fed-batch 培养建议

- 建议根据 QuaCell® CHO Feed 说明书推荐策略添加补料。
- Day4 开始测定细胞的糖浓度; 若细胞生长速度较快, 则 Day3 开始测定细胞的糖浓度, 测糖值低于 3g/L 补到 6g/L; 若当天有补料操作, 建议在补料 1h 后再进行测糖。
- Day14 或者细胞活率小于 70% 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 的方法来确定合适的培养参数, 得到更好的结果。

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	供 GMP 制造	不干胶便签