

产品名称:	QuaCell® CHO LeGend Medium
货号:	A12013
规格:	10L、100L、500L
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

QuaCell® CHO LeGend Medium 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	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，佩戴护目镜，洁净服，口罩和手套等。

## 用前准备

### 配制方法

- 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；
- 缓慢加入 24.28 g/L 的 QuaCell® CHO LeGend Medium 干粉，搅拌混合 10 分钟；
- 缓慢加入 5 mol/L NaOH 调整 pH 到 9.05±0.10，搅拌至少 30 分钟；
- 缓慢加入 6 mol/L HCl 调整 pH 到 7.00±0.10，搅拌 10 分钟；
- 缓慢加入 1.90 g /L 的 NaHCO<sub>3</sub>，搅拌 10 分钟直到溶

解：

- 使用 6 mol/L 的 HCl 或者 5 mol/L NaOH 将 pH 最终调整到 7.00±0.10；
- 加入注射用水定容至所需的最终体积，搅拌混合均匀，测量 pH 6.8~8.0，渗透压 290~350 mOsm/kg；
- 通过 0.20 μm 孔径滤膜正压过滤除菌。

### 注意：

- 注意控制初始水温；
- 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；
- 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。

QuaCell® CHO LeGend Medium 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：QuaCell® CHO LeGend Medium

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% CO<sub>2</sub> 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

- 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；
- 将细胞液转移至 5 mL 预热的 QuaCell® CHO LeGend Medium (以下简称 LeGend)，吹打均匀；1000 rpm 离心 5 分钟，丢弃上清液；使用 5 mL LeGend 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 摆瓶，加入适量 LeGend，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% CO<sub>2</sub>, 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

- 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 LeGend 的摇瓶中，使细胞达到所需接种密度；
- 继续置于 5% ~ 8% CO<sub>2</sub>, 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

LeGend 通常在不经过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 LeGend 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 LeGend 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新悬于预热好的完全 LeGend 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 LeGend 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% LeGend)。每个步骤视情况可多次传代；
- 在 100% LeGend 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 LeGend。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。

## 相关产品

货号	品名
A11013	QuaCell® CHO LeGend Medium
A12906	QuaCell® CHO Feed06 Supplement
A11906	QuaCell® CHO Feed06 Supplement
A12010	QuaCell® CHO LeAd Medium

### 标签图例

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