

产品名称:	QuaCell® CHO CD06 Medium
货号:	A12006
规格:	10L、100L、定制
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 CD06 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	6.35 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 80~90% 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 23.20 g/L 的 QuaCell® CHO CD06 Medium 干粉，搅拌混合 10 分钟；
3. 缓慢加入 5 mol/L NaOH 调整 pH 到 9.05±0.10，搅拌 30 分钟；
4. 缓慢加入 5 mol/L HCl 调整 pH 到 7.00±0.10，搅拌 10 分钟；
5. 缓慢加入 2.58 g/L 的 NaHCO₃，搅拌 10 分钟直到溶解；
6. 使用 5 mol/L 的 HCl 或者 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 pH 7.0~8.0，渗透压 275~325 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。

- QuaCell® CHO CD06 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 CD06 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% 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 QuaCell® CHO CD06 Medium (以下简称 CD06)，吹打均匀；1000 rpm 离心 5 分钟，丢弃上清液；使用 5 mL CD06 重悬；
3. 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 CD06，使细胞达到所需复苏密度；建议复苏密度为 (3~5) × 10⁵ cells/mL；
4. 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 CD06 的摇瓶中，使细胞达到所需接种密度；
- 继续置于 37°C、5%~8% CO₂ 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

CD06 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 CD06 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 CD06 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 CD06 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 CD06 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% CD06)。每个步骤视情况可多次传代；
- 在 100% CD06 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 CD06。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，且细胞状态较好；
- 使用自动细胞计数仪或其它计数仪器进行细胞计数，根据最终冻存密度计算出冷冻保存培养基所需的体积，建议冻存密度为 $> 1 \times 10^7$ cells/mL；
- 通过 1000 rpm 离心 5 分钟收获细胞，丢弃上清液，用适量冷冻保存培养基重悬细胞至冻存密度；
- 根据规格立即将细胞悬浮液的分装到冻存管中；

- 按照标准程序，在自动或手动控制速率的冷冻设备中实现冷冻保存。将冷冻细胞转移到液氮或 -130°C 以下保存；

注意：在液氮或 -130°C 以下储存 24 小时后，取出一只冷冻保存细胞进行复苏，检查活率及其它指标。请参阅“细胞复苏”。

Fed-batch 培养建议

- 建议根据 QuaCell® 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
A11006	QuaCell® CHO CD06 Medium
A11904	QuaCell® CHO Feed04 Supplement
A12904	QuaCell® CHO Feed04 Supplement
A11004	QuaCell® CHO CD04 Medium
A12004	QuaCell® CHO CD04 Medium

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