

|       |                               |
|-------|-------------------------------|
| 产品名称: | QuaCell® Lepeals Basal Medium |
| 货号:   | A12014                        |
| 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® Lepeals Basal 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。适用各 CHO 细胞亚型，如 CHO-GS, CHO-K1, CHO-DG44 和 CHO-S。此培养基配方中不含 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 | 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% 的注射用水或者超纯水加入到合适干净的容器中，室温 18°C~25°C；
- 缓慢加入 22.42 g/L QuaCell® Lepeals Basal Medium 干粉，搅拌至无粉末团块残留，约 30 分钟。此步骤中，溶液不会澄清透明，但不会有任何团块存在。
- 加入 5mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 9.0±0.1，继续搅

拌 30 分钟使所有成分完全溶解；

- 加入 2.06 g/L 碳酸氢钠，搅拌至碳酸氢钠粉末完全溶解；
- 使用 5 mol/L 的 HCl 将 pH 调整至 7.2±0.2，继续搅拌 10 分钟；
- 加入注射用水或者超纯水定容至所需的最终体积，搅拌 5 分钟，混合均匀；测量 pH：6.8-7.6 渗透压：275-325 mOsmo/kg；
- 通过 0.22 μm 孔径滤膜正压过滤除菌；
- 2°C ~ 8°C 避光保存。

### 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。

## 培养条件

培养基：QuaCell® Lepeals Basal 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® Lepeals Basal Medium (以下简称 Lepeals)，吹打均匀；1000 rpm 离心 5 分钟，丢弃上清液；使用 5 mL Lepeals 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 Lepeals，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；
4. 在含有 5% ~ 8% CO<sub>2</sub>, 37°C 的培养箱或摇床进行培养；
  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；
2. 将所需量细胞原液加入到含有 Lepeals 的摇瓶中，使细胞达到所需接种密度；
3. 继续置于 37°C、5% ~ 8% CO<sub>2</sub> 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

Lepeals 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 Lepeals 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 Lepeals 中，如下：

1. 1000 rpm 离心细胞悬浮液 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新悬于预热好的完全 Lepeals 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 Lepeals 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% Lepeals)。每个步骤视情况可多次传代；
3. 在 100% Lepeals 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 Lepeals。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

1. 准备好所需数量的细胞，且细胞状态较好；
2. 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；
3. 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；
4. 根据规格立即将细胞悬浮液的分装到冻存管中；
5. 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® CellBest 007 Feed Medium 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                                    |
|--------|---------------------------------------|
| A11014 | QuaCell® Lepeals Basal Medium         |
| A11907 | QuaCell® CellBest Feed007 Feed Medium |
| A12907 | QuaCell® CellBest Feed007 Feed Medium |

## 标签图例

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