

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

1. 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；
2. 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。
3. 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；

4. 加入 2.06 g/L 碳酸氢钠，搅拌至碳酸氢钠粉末完全溶解；
5. 使用 5 mol/L 的 HCl 将 pH 调整至 7.2±0.2，继续搅拌 10 分钟；
6. 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 mOsm/kg；
7. 通过 0.22 μm 孔径滤膜正压过滤除菌；
8. 2°C ~ 8°C 避光保存。

## 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。

## 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

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® 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；
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 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;

- 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 Lepeals 的摇瓶中, 使细胞达到所需接种密度;
- 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期且活率 > 90%。

### 直接接种

将悬浮培养细胞转移到 Lepeals 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 Lepeals 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 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;
- 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

- 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® 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

		
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