

产品名称:	QuaCell® CHO LeGend Medium
货号:	A11013
规格:	1000mL
形式:	液体
储存温度:	2°C ~ 8°C
有效期:	12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	1.9 g/L
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

- 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% 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

- 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 摇瓶, 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% 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% 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

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
A11010	QuaCell® CHO LeAd Medium
A11905	QuaCell® CHO Feed05 Supplement
A11906	QuaCell® CHO Feed06 Supplement
A11004	QuaCell® CHO CD04 Medium
A11008	QuaCell® CHO CD08 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