

|       |                          |
|-------|--------------------------|
| 产品名称: | QuaCell® CHO LeAd Medium |
| 货号:   | A11010                   |
| 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 LeAd 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。

培养类型: 悬浮

培养容器: 摆瓶/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。

## 组分

|         |            |
|---------|------------|
| L-谷氨酰胺  | 不含, 用前按需添加 |
| 葡萄糖     | 6 g/L      |
| 次黄嘌呤&胸苷 | 不含         |
| 酚红      | 不含         |
| 碳酸氢钠    | 1.96 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。

## 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 LeAd Medium, 吹打均匀; 1000 rpm 离心 5 分钟, 丢弃上清液; 使用 5 mL QuaCell® CHO LeAd Medium 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 摆瓶, 加入适量 QuaCell® CHO LeAd Medium, 使细胞达到所需复苏密度; 建议复苏密度为 (3~5) × 10<sup>5</sup> 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 (3~5) × 10<sup>5</sup> cells/mL;
2. 将所需量细胞原液加入到含有 QuaCell® CHO LeAd Medium 的撆瓶中, 使细胞达到所需接种密度;
3. 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

QuaCell® CHO LeAd Medium 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 QuaCell® CHO LeAd Medium 驯化之前, 务必确保细胞处于对数生

## 用前准备

- QuaCell® CHO LeAd 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 LeAd Medium

细胞系: CHO cells

长中期且活率>90%。

### 直接接种

将悬浮培养细胞转移到 QuaCell® CHO LeAd Medium 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 QuaCell® CHO LeAd Medium 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 QuaCell® CHO LeAd Medium 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% QuaCell® CHO LeAd Medium。每个步骤视情况可多次传代；
- 在 100% QuaCell® CHO LeAd Medium 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 QuaCell® CHO LeAd Medium。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                             |
|--------|--------------------------------|
| A12010 | QuaCell® CHO LeAd Medium       |
| A12904 | QuaCell® CHO Feed04 Supplement |
| A11904 | QuaCell® CHO Feed04 Supplement |

### 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  |
| RUE       |          |       |
| 仅供研究      | 供 GMP 制造 | 不干胶便签 |