

产品名称:	QuaCell® CHO CD Medium 09
货号:	KF1207
规格:	10L, 100L
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 CD Medium 09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。

5. 缓慢加入 1.96 g / L 的 NaHCO<sub>3</sub>，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，记录 pH 值，pH 应为 7.05±0.10；
8. 通过 0.20 μm 孔径滤膜正压过滤除菌。

## 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	不含
水解产物	不含

- QuaCell® CHO CD Medium 09 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。

## 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。

## 培养条件

培养基：QuaCell® CHO CD Medium 09

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。

## 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 22.8 g / L 的 QuaCell® CHO CD Medium 09 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；

## 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 CD Medium 09，吹打均匀；1000 rpm 离心 5 分钟，丢弃上清液；使用 5 mL QuaCell® CHO CD Medium 09 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 CD Medium 09，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  $(3 \sim 5) \times 10^5$  cells/mL；
2. 将所需量细胞原液加入到含有 QuaCell® CHO CD Medium 09 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

QuaCell® CHO CD Medium 09 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 CD Medium 09 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 QuaCell® CHO CD Medium 09 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培养基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 QuaCell® CHO CD Medium 09 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 CD Medium 09)。每个步骤视情况可多次传代；
3. 在 100% QuaCell® CHO CD Medium 09 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 CD Medium 09。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® 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
A11006	QuaCell® CHO CD06 Medium
A12904	QuaCell® CHO Feed04 Supplement
A11004	QuaCell® CHO CD04 Medium
A12004	QuaCell® CHO CD04 Medium

## 标签图例

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