



EX-CELL[®] Cellvento[™] 4CHO

化学成分限定细胞培养基

产品说明

专门开发了EX-CELL[®] Cellvento[™] 4CHO化学成分限定细胞培养基，用于悬浮培养物中的中华仓鼠卵巢(CHO)细胞的生长，以及单克隆抗体和重组蛋白质的表达。配方为化学成分限定、非动物来源，不含有水解产物或未知组成。所配制的EX-CELL[®] Cellvento[™] 4CHO培养基不含L-谷氨酰胺。

产品使用

EX-CELL[®] Cellvento[™] 4CHO培养基应当用作流加培养应用中的扩大培养基和生产培养基。在流加培养工艺中，推荐将它与流加补充物EX-CELL[®] Cellvento[™] 4Feed组合使用。

培养基不含次黄嘌呤和胸腺嘧啶核苷，以便也能够广泛用于dhfr转基因细胞。流加培养基不含葡萄糖，以便能够在流加培养过程中对葡萄糖浓度进行微调，从而最大限度地减少乳酸产生。流加培养基含有半胱氨酸和酪氨酸来源，不应当补充任何额外的碱性流加培养基。

此产品仅用于研发或生产，不能用于人体或治疗使用。

10L EX-CELL[®] Cellvento[™] 4CHO培养基的配制方法

- 缓慢将237克粉末加入盛有8.0 L水的合适容器中，水可使用Mili-Q制备或者相当等级的细胞培养用水。
- 可用水冲洗培养基容器避免残留。
- 充分搅拌30分钟，让其溶解（溶液仍会轻微混浊）。
- 添加2 g/L的碳酸氢钠，搅拌至溶解（~10分钟）。
- 加入细胞培养级别的水定容到10L。
 - 确定最终pH为7.0 ± 0.3。
- 测定培养基的渗透压。最终渗透压应当为310 ± 30 mOsmol/kg。
- 使用0.22 μm Express[®] PLUS 或 Durapore[®]（杯式过滤器或囊式过滤器）进行除菌膜过滤。
- 避光保存在2-8 °C环境中。
 - 配制好的EX-CELL[®] Cellvento[™] 4CHO液体培养基可在至少90天内保持稳定
 - 若添加了补充物，液体培养基可最多保持4个星期稳定。

注意：该培养基不含L-谷氨酰胺或次黄嘌呤和胸腺嘧啶核苷。如有需要，在使用前以无菌方式补充。

储存

干粉和压实培养基应当避光储存在2-8°C的环境中。过期勿用。

有效期

12个月

以流加培养模式，使用EX-CELL® Cellvento™ 4CHO培养基

- 使用EX-CELL® Cellvento™ 4CHO培养基培养非GS CHO细胞系之前，添加4-8 mM L-谷氨酰胺。
- 在用于非dhfr系统之前，添加1x HT
- 使用本产品时，不需补充表面活性剂(例如泊洛沙姆)。

在接种系列扩增期间，如有需要，应当添加细胞选择压力试剂。通常，我们建议去掉在流加培养生产步骤和培养期间的选择压力。

直接驯化

细胞系可在EX-CELL® Cellvento™ 4CHO培养基中直接驯化。细胞接种密度应当为 3×10^5 - 5×10^6 细胞/mL，然后当密度达到 1×10^6 - 3×10^6 细胞/mL，且活率 $\geq 80\%$ 时，对细胞执行次代培养。当细胞获得稳定的倍增时间(20-30小时)，且VCD $\geq 90\%$ ，至少2-3次传代，则驯化完成。

起初在任何第一代EX-CELL® Cellvento™ CHO产品中驯化和培养的细胞，均可在EX-CELL® Cellvento™ 4CHO中直接解冻或培养。

逐步驯化

下面提供的驯化指南，依靠定期细胞次代培养，以保持培养物处于对数生长期。这通常意味着细胞每3-4天应当进行一次传代。建议每个驯化步骤至少进行两次传代，以确保细胞恰当地适应至新的培养基环境中。

现行培养基与EX-CELL® Cellvento™ 4CHO培养基的比例 (%)	接种密度 (x10 ⁵ 细胞/mL)	细胞生长评价	进行下一步的验收准则
75:25	3.0	细胞密度、活率处于细胞对数生长中期	正常的细胞倍增时间；活率>80%，至少2次传代
50:50	3.0	细胞密度、活率处于细胞对数生长中期	正常的细胞倍增时间；活率>80%，至少2次传代
25:75	3.0	细胞密度、活率处于细胞对数生长中期	正常的细胞倍增时间；活率>80%，至少2次传代
10:90	3.0	细胞密度、活率处于细胞对数生长中期	正常的细胞倍增时间；活率>80%，至少2次传代
0:100	3.0	细胞密度、活率处于细胞对数生长中期	当细胞保持正常的倍增时间，活率 $\geq 90\%$ ，至少2次传代，则驯化完成

深低温保藏

将细胞冷冻于90% EX-CELL® Cellvento™ 4CHO培养基和细胞培养级别的10%二甲基亚砜(DMSO)中，可创建活细胞库。

细胞冷冻操作程序：

- 在洁净台或层流罩下，以1:9体积比，混合无菌DMSO与EX-CELL® Cellvento™ 4CHO培养基。配制时，由于DMSO稀释过程会发热，应当预先配制冷冻培养基，储存在2-8°C环境中备用。
- 选择处于对数生长中期、具有正常形状的细胞，细胞密度应当 $> 1.5 \times 10^6$ 细胞/mL，活率 $> 95\%$ 。
- 以1200-1500 rpm离心5分钟 (200-300g)。

- 弃去上清液，让细胞再悬浮于低温的冷冻培养基中(细胞密度为 1×10^7 - 2×10^7 活细胞/mL)，将细胞悬液转移到无菌的冷冻小瓶中，每个小瓶1mL。

- 冷冻程序(使用盛有异丙醇的冷冻容器)：将冷冻小瓶放进低温箱，遵循连续降温程序冷冻细胞：
 - 在4°C下30分钟
 - 在-20°C下2-4小时
 - 在-80°C下过夜
 - 将小瓶转移到液氮罐中，以长期储存。

- 选择处于对数生长中期、具有正常形状的细胞，细胞密度应当 $> 1.5 \times 10^6$ 细胞/mL，活率 $> 95\%$ 。

- 以1200-1500 rpm离心5分钟 (200-300g)。

注意：使用自动冷却仪器，可使冷冻程序标准化。在这种情况下，冷却速度受控，细胞悬液通常在1小时内从4 °C冷冻到-150 °C。

细胞解冻和复苏程序

- 为了细胞解冻,准备37°C水浴。
- 在洁净台或层流罩下,在50mL离心管中配制10mL培养基。
- 将液氮中的CHO细胞冷冻小瓶转移到37°C水浴中。
- 当冰颗粒与小瓶壁分离,取出小瓶(温度更高时,DMSO可能有毒性效应)。
- 将CHO细胞悬液从冷冻小瓶转移到离心管中,以1200-1500 rpm离心5分钟。
- 弃去上清液,让细胞再悬浮于新鲜培养基(EX-CELL® Cellvento™ 4CHO培养基)中,以获得接种密度 3×10^5 – 5×10^5 细胞/mL,然后转移到125mL锥形瓶中培养。在37°C CO₂培养器(5% CO₂,80%湿度)中培养细胞,至 $\geq 1 \times 10^6$ 细胞/mL。然后,遵循标准规程,进行次代培养。

EX-CELL® Cellvento™ 4CHO订货信息

货号	产品名称	包装规格	配制量
1.03795.0010	EX-CELL® Cellvento™ 4CHO COMP	0.237 kg	10升
1.03795.0100	EX-CELL® Cellvento™ 4CHO COMP	2.370 kg	100升

EX-CELL® Cellvento™ 4Feed订货信息

货号	产品名称	包装规格	配制量
1.03796.0005	EX-CELL® Cellvento™ 4Feed COMP	0.651 kg	5升
1.03796.0010	EX-CELL® Cellvento™ 4Feed COMP	1.304 kg	10升
1.03796.0050	EX-CELL® Cellvento™ 4Feed COMP	6.518 kg	50升

细胞培养添加物订货信息

货号	产品名称	包装规格
1.37020.5000	氢氧化钠小粒,适合于生物制药生产,EMPROVE® bio	5 kg
1.37013.2500	碳酸氢钠,适合于生物制药生产,EMPROVE® bio,欧洲药典,英国药典,美国药典,日本药典	2.5 kg
1.00286.1000	L-谷氨酰胺,适合用作赋形剂,EMPROVE® exp,德国药典,美国药典	1 kg

除菌过滤器订货信息

货号	产品名称	包装规格
GPWP02500	密理博Express® PLUS 膜,0.22 µm,25 mm	100
GVWP02500	Durapore® 膜,0.22 µm,25 mm	100

了解更多Cellvento™ CHO培养基产品信息请访问www.merckmillipore.com/cellvento



上海徐汇办公室

上海市淮海中路1010号
嘉华中心41层
电话: (021)61415566
传真: (021)61415567
邮编: 200031

上海张江办公室

上海市浦东新区张江高科
晨晖路88号2号楼2楼
电话: (021)20338288
传真: (021)50803042
邮编: 201203

北京

北京市朝阳区将台路甲2号
诺金中心25层
电话: (010)59072688
传真: (010)59072699
邮编: 100016

广州

广州市天河区冼村路5号
凯华国际中心1201-1204
电话: (020)32255333
传真: (020)32255380
邮编: 510623

成都

成都市锦江区人民南路二段1号
仁恒置地广场1706室
电话: (028)80740222
传真: (028)80740227
邮编: 610016

本资料中所有内容 (包括但不限于产品图片、公司logo等) 为德国默克集团所有, 未经允许, 任何人或实体不得擅自使用或转载。

更多详情, 敬请登陆: www.merckmillipore.com 技术服务电话: 400 889 1988 中国技术服务中心: asiatechserv@merckgroup.com

资料编号: DS9502EN00 06/18