



BalanCD CHO Perfusion

货号 #	产品名称	形式	标准规格*
91178	BalanCD CHO Perfusion	液体	1 L
94149	BalanCD CHO Perfusion	粉末	10 L

* 可根据用户需要定制包装规格

预期用途

仅用于研究或进一步生产使用。

产品描述

BalanCD CHO Perfusion 是一种化学成分明确的、不含动物成分的完全生长培养基，用于中国仓鼠卵巢（CHO）细胞，专门设计在连续稳态灌流过程中提高细胞的生长和生产力。BalanCD CHO Perfusion 不含L-谷氨酰胺，以延长保质期。建议添加的 L-谷氨酰胺浓度为 4-8mM（20-40mL/L）。在培养期间应监测葡萄糖，因为可能需要额外的补充。BalanCD CHO Perfusion 被设计为支持在具有每天至少一个罐体积的灌流能力的生物反应器中 CHO 细胞系的高细胞密度。该培养基不含抗生素、抗真菌药物、蛋白质水解物或任何其他未定义的成分。

运输

本产品出货时以室温运输，在您收到货物后，请立即储存在 2-8 °C 的环境中，避光。

质量保证

所有质量控制测试结果参见产品各个批次的分析报告（COA），详情可在 <https://fujifilmbiosciences.fujifilm.com> 上获取或咨询相关人员。

储存说明和稳定性

粉末培养基

请将产品储存在 2-8°C 远离大气水分的干燥环境中。本产品具有很强的吸湿性，应保存在干燥的环境中，避免受潮。开封前将粉末平衡至室温，使用后请重新密封。粉末应该是自由流动的，如发现结块请勿使用。该产品（Cat #94149）在未开封和正确储存的情况下，可稳定保存 24 个月。在指定的有效期后不要使用。粉末应该是自由流动的；如果有结块，就不要使用。避免多次打开和关闭容器。

液体培养基

产品须在无菌技术下使用以避免发生污染。产品储存在 2-8°C 并避光。本产品（Cat #91178）在未开封和正确储存的情况下可稳定 12 个月。产品超过保质期之后请勿使用。未开封保质期之后的使用未经验证。若出现颗粒或浑浊请立即停止使用。

使用指南

粉末培养基的水化

1. 将粉末培养基目录 #94149 (29.65g/L) 加入到所需最终体积的 90% 的 WFI (目录#9309) 中，加入到适当尺寸的容器中。
2. 将溶液混合约 30-60 分钟，或直到粉末充分溶解并澄清。
3. 向溶液中加入 2.20 g/L 碳酸氢钠，并以中等速度混合，直到完全溶解。
4. 测量 pH。如有必要，用 5N 盐酸或氢氧化钠将 pH 调节至 7.0-7.4。
5. 加入额外的水，使溶液达到最终所需的体积。
6. 测量渗透压。最终渗透压浓度预计为 285-310 mOsm/kg。
7. 通过 0.2 μ m 滤膜的无菌过滤器。
8. 在 2-8 °C 的温度下，在黑暗中保存长达 1 年。使用前应避免在室温下长时间暴露。

培养基补充物

在使用前，向培养基中无菌添加 20-40 mL/L 的 200 mM L-谷氨酰胺 (目录#9317) 以达到 4-8mM 的最终浓度来补充 L-谷氨酰胺。

驯化

I. 从添加血清的培养基向 BalanCD CHO Perfusion 的直接驯化

在大多数情况下，CHO 细胞可以从补充血清的培养基中直接传代到 BalanCD CHO Perfusion 中。

1. 将 BalanCD CHO Perfusion 培养基加入培养皿中，并平衡至 37°C 和 5% CO₂。
2. 将来自血清补充培养基的 CHO 细胞以 3x10⁵ 个活细胞/mL 的速率传代到 BalanCD CHO Perfusion 中。需要保证细胞在传代前处于对数生长阶段且细胞活率不低于 90%。
3. 在 37°C 和 5% CO₂ 条件下培养，直到活细胞密度达到 1x10⁶ 个活细胞/mL。
4. 以 3x10⁵ 个活细胞/mL 起始密度在新鲜 BalanCD CHO Perfusion 培养基中传代。
5. 将细胞在 BalanCD CHO Perfusion 中维持数代，每周传代两次以实现完全适应。

II. 从添加血清的培养基向 BalanCD CHO Perfusion 的逐步驯化

若直驯化无法顺利驯化细胞，可采用逐步驯化的方案

1. 将原始血清补充培养基和 BalanCD CHO Perfusion 培养基以 3:1 的比例分配到适当的培养容器中，并在 37°C 和 5% CO₂ 下平衡。
2. 将来自补充血清的培养物的 CHO 细胞以 3x10⁵ 个活细胞/mL 的速率传代到 3:1 的 BalanCD CHO 灌流中。需要保证细胞在传代前处于对数生长阶段且细胞活率不低于 90%。
3. 在 37°C 和 5% CO₂ 条件下培养，直到活细胞密度达到 1x10⁶ 个活细胞/mL。
4. 以 3x10⁵ 个活细胞/mL 的起始密度将细胞传代到新鲜培养基中，该培养基以原始血清补充培养基与 BalanCD CHO Perfusion 的 2:1 比例制备。
5. 重复步骤 3 和 4，将原始血清补充培养基和 BalanCD CHO Perfusion 按 1:1、1:2、1:4 和 0:1 的顺序稀释。如果细胞在特定的适应步骤中看起来不健康或生长速度显著下降，则在传代到下一个比例之前，将细胞保持在前一步骤的培养基比例中额外传代。
6. 将细胞在 BalanCD CHO Perfusion 中维持数代，每周传代两次。

传代方法

悬浮培养条件:

- 培养容器：摇瓶（125 mL 平底聚碳酸酯摇瓶，带挡板）
- 工作体积：125 mL 烧瓶的 30 mL
- 种子密度：2-5 x 10⁵ cells/mL
- 培养箱：37°C，5% CO₂，120 rpm 摇动速度, 80% 湿度

1. 将 BalanCD CHO Perfusion 培养基分配到培养容器中，并平衡至 37°C 和 5% CO₂。
2. 将细胞以 5×10⁵ 个活细胞/mL 的速率传代到 BalanCD CHO Perfusion 培养基中。需要保证细胞在传代前处于对数生长阶段且细胞活率不低于 90%。
3. 培养 3-4 天或直到活细胞密度达到 3-5 × 10⁶ 个活细胞/mL。
4. 将细胞在 BalanCD CHO Perfusion 中维持数代，每周传代培养两次。强烈建议在使用前至少进行三次 BalanCD CHO Perfusion 培养。

冻存

冷冻

1. 使用存活率 > 90% 且处于对数生长期的细胞。
2. 制备所需体积的冷冻培养基 - 90% 冷 BalanCD CHO Perfusion + 10% DMSO (Sigma Aldrich D2650 或同等产品)。在使用前保持在 4°C。
3. 以 200 x g 离心细胞 5 分钟。
4. 将细胞重新悬浮在低温冷冻培养基中，以达到 1 × 10⁷ 个活细胞/mL 或所需的细胞密度。
5. 将 1 mL 或所需体积分装至无菌冻存管中。
6. 以 -1 °C/分钟的速度逐渐将冻存管的温度降至 -80°C。
7. 将冻存管储存至液氮罐中。

复苏

1. 在 37°C 的水浴中迅速解冻冻存管。
2. 将细胞悬液转移至含有 10 mL 预热的 BalanCD CHO Perfusion 培养基的培养瓶中。
3. 200 x g 离心 5 分钟，在不干扰细胞的情况下除去上清液。
4. 将细胞重新悬浮于培养基中，将细胞悬液转移到含有预热的 BalanCD CHO Perfusion 培养基的培养瓶中，使初始细胞密度为 3×10⁵ cells/mL。在 37°C 和 5% CO₂ 下培养 3 - 4 天。
5. 根据细胞传代规程进行细胞传代。细胞通常在最初的 1-2 代中生长缓慢。强烈建议在使用之前，在 BalanCD CHO Perfusion 中至少进行三次传代。

灌流应用

BalanCD CHO Perfusion 培养基可以支持一系列连续或稳态灌流培养应用，包括小规模灌流模拟系统和具有灌流能力的生物反应器。该培养基被设计为在每天 1 个罐体积 (VVD) 下支持细胞生长和生产力。应基于细胞系的知识或通过实验确定使用预定的稳态 VCD。当使用生物反应器时，应优化仪器参数，以获得 BalanCD CHO Perfusion 培养基的更佳结果。

通过稳态实验确定活细胞密度 VCD

在开始生物反应器灌流实验之前，可以使用旋转管（离心机管）或微生物反应器（即 Ambr 15）来确定细胞系的目标稳态。下面建议的方案利用旋转管灌流模拟模型来确定 BalanCD CHO perfusion 可以达到的更大 VCD。

1. 使用处于对数生长期的细胞，以 2 × 10⁶ cells/mL 的 VCD 将细胞接种到含有 10 mL 评估培养基，在 37°C、5% CO₂ 下孵育细胞，并对细胞系进行特定搅拌。
2. 在接种后进行第 0 天计数以确认接种密度。
3. 24 小时后，进行细胞计数，并开始每天更换培养基，最多 14 天。
4. 细胞计数后，通过以 200–250 x g 离心旋转管 5 分钟，进行培养基更换。
5. 对于每天一个罐体积 (VVD)，去除整个上清液体积，使细胞沉淀不受干扰。注意：培养皿中会有残留的培养基。

6. 对于每个容器，使用血清移液管，加入 10 mL 新鲜培养基，轻轻上下移液管以重悬细胞。（或者，在加入新鲜培养基之前，轻轻拍打容器，使颗粒破裂，以大幅地减少细胞损失。然后，加入新鲜培养液。）
7. 培养基交换完成后，将容器放回培养箱。
8. 从培养物中去除的培养基可用于测量代谢物（pH、Gln、Glu、葡萄糖、乳酸、铵）、渗透压、生产率和/或评估产品质量。
9. 继续上述步骤 3 至 8 长达 14 天，或直到细胞的活力降至 80% 以下。
10. 根据您喜欢的数据指标，包括但不限于生长和滴度，确定稳态 VCD。也可以考虑产品质量属性（PQA）。

相关产品

货号 #	产品名称	标准规格*
9317	L-Glutamine Solution (200 mM)	100 mL, 500 mL
9309	Water for Injection (WFI)	1L, 20L, 200 L
9240	1X PBS, Dulbecco's Phosphate Buffered Saline	100 mL, 500 mL, 1 L

* 可根据用户需要定制包装规格

技术支持

联系我们

更多信息和帮助，请通过：

Email: biopharma@fujifilm.com

Direct line: 021-5010 6000 转生命科学事业部

网站资源

浏览<https://fujifilmbiosciences.fujifilm.com/us>获取如下技术资料和信息：

- Safety Data Sheets (SDS)
- COAs (when available)
- FAQs (when available)
- Product literature
- Complete list of offices and contact information by country

富士胶片(中国)投资有限公司

公司地址：上海市浦东新区平家桥路100弄6号7号楼601单元

网址：<https://fujifilmbiosciences.fujifilm.com/us>

销售咨询：021-5010 6000 转生命科学事业部