



BalanCD CHO DG44

货号 #	产品名称	形式	标准规格*
91177	BalanCD CHO DG44	液体	1 L
94148	BalanCD CHO DG44	粉末	10 L

* 其他包装尺寸可根据要求提供

预期用途

仅用于研究或进一步生产使用。

产品描述

BalanCD CHO DG44 是一种化学成分明确的生长培养基，专门用于悬浮 CHO DG44 细胞系的生长和生产力。BalanCD CHO DG44 不含L-谷氨酰胺，以延长保质期。建议使用时可添加浓度为 4-8 mM 的 L - 谷氨酰胺。在培养期间应监测葡萄糖，因为可能需要额外的补充。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。

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。该产品在未开封和正确储存的情况下，可稳定保存 24 个月。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。

粉末培养基的水化

1. 在适当大小的容器将粉末培养基 (25.16 g/L, 货号 94148) 加入到所需的最终体积的 WFI (货号 9309 或其它替代产品) 进行水化。
2. 将溶液混合约 30-60 分钟, 或直到粉末完全溶解 (此时溶液可能仍然出现混浊)。
3. 向溶液中加入 2.20 g/L 碳酸氢钠, 并以中速混合直至完全溶解。
4. 测量 pH 值, 并使用 5N HCl 或 NaOH 溶液将其调整至预期范围 7.0-7.4。
5. 测量渗透压, 预期渗透压摩尔浓度范围为 285-310 mOsm/kg。
6. 通过 0.2 μ m 滤膜进行无菌过滤。
7. 在 2-8°C 的避光环境下最长可保存 1 年。使用前应避免在室温下进行长时间暴露。

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 (货号 9317), 以达到 4-8 mM 的最终浓度。BalanCD CHO DG44 是为了促进在细胞系开发过程中重新引入 DHFR 基因的 DG44 细胞系的生长。为了促进缺乏 DHFR 基因的亲本 DG44 细胞的生长, 必须在培养基中添加适当浓度的胸腺嘧啶。

驯化

I. 从添加血清的培养基向 BalanCD CHO DG44 的直接驯化

在大多数情况下, CHO 细胞可以从添加血清的培养基中直接传代培养到 BalanCD CHO DG44 中。

1. 将 BalanCD CHO DG44 培养基加入培养容器, 平衡至 37°C 以及 5% CO₂ 浓度。
2. 将在添加血清的培养基中培养的 CHO 细胞以 3x10⁵ cells/mL 的活细胞密度转移至 BalanCD CHO DG44 中传代。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 cells/mL。
4. 将细胞传代至新鲜的 BalanCD CHO DG44 培养基中, 初始细胞密度为 3x10⁵ cells/mL。
5. 在 BalanCD CHO DG44 中以每周两次的频率对细胞进行多次传代。

II. 从添加血清的培养基向 BalanCD CHO DG44 的逐步驯化

若直接驯化无法顺利驯化细胞, 可采用逐步驯化的方案

1. 将添加血清的培养基和 BalanCD CHO DG44 培养基按 3:1 的比例分配至合适的培养容器中, 平衡至 37°C 以及 5% CO₂ 浓度。
2. 以 3x10⁵ cells/mL 的细胞密度将 CHO 细胞从添加血清的培养基传代至 3:1 BalanCD CHO DG44 混合培养基。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, 直至活细胞密度达到 1x10⁶ cells/mL。
4. 以 3x10⁵ cells/mL 的起始密度将细胞传代至 2:1 的比例新鲜配制的混合培养基中。
5. 以添加血清的培养基: BalanCD CHO DG44 = 1:1, 1:2, 1:4, 0:1 的比例配制混合培养基, 重复步骤 3 和 4。若观察到细胞的健康程度或生长速度在驯化的某一特定步骤中显著下降, 在使用下一种配制比例传代之前需要在当前比例的培养基中再传代一次。
6. 在 BalanCD CHO DG44 中以每周两次的频率对细胞进行多次传代。

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 摇瓶的 25-30 mL
 - 接种密度: $2-4 \times 10^5$ cells/mL
 - 培养箱环境设定: 37°C, 5% CO₂, 120 rpm 摇动速度, 80% 湿度
1. 将 BalanCD CHO DG44 培养基放入培养容器中, 平衡至 37°C 和 5% 二氧化碳。
 2. 以 5×10^5 cells/mL 的接种密度传入 BalanCD CHO DG44 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 $3-5 \times 10^6$ cells/mL。
 4. 在 BalanCD CHO DG44 中以每周两次的频率对细胞进行多次传代。
 5. 强烈推荐在使用前至少在 BalanCD CHO DG44 中进行 3 次传代。

冻存

冷冻

1. 使用高活率 (> 90%) 且处于对数生长阶段的细胞。
2. 准备所需体积的冷冻培养基- 90% 冷 BalanCD CHO DG44 + 10% DMSO (Sigma Aldrich D2650 或同等产品)。使用前保持 4 摄氏度。
3. 细胞 200 x g 离心 5 分钟。
4. 将细胞重新悬浮在低温冷冻培养基中, 以达到 1×10^7 个活细胞/mL 或所需的细胞密度。
5. 将 1 mL 或所需的体积分装至无菌冻存管中。
6. 以 -1°C/分钟的速度逐渐降低冻存管的温度, 直至低于 -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 DG44 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 DG44 培养基的培养瓶中, 使初始细胞密度为 3×10^5 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 DG44 中至少进行三次传代。

Fed-Batch 应用

BalanCD CHO DG44 培养基旨在用 BalanCD CHO Feed 4 (货号 94134) 在补料分批过程中支持二氢叶酸还原酶缺陷 (DHFR) 中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞的生长和生产力。细胞系各不相同, 因此鼓励客户为其特定细胞系确定最佳体积和补料计划。BalanCD CHO DG44 培养基在需要不同补料计划的多个细胞系上进行测试。请参阅下面的表 1 中的补料方法优化指南。

简言之, BalanCD CHO Feed 4 应以所需浓度制备, 并且应确定初始培养体积的 10 - 30% 之间的最佳总补料体积。在随后的实验中, 一旦确定了补料体积, 就应该优化补料计划, 如下表所示, 其中 20% 的补料体积分布在进料分批过程的天数上。

表1：使用20%补料体积的补料计划优化示例。

Feed Schedule										
Culture Day	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
FB-1	4%	4%	4%	4%	4%					
FB-2		4%	4%	4%	4%	4%				
FB-3			4%	4%	4%	4%	4%			
FB-4				4%	4%	4%	4%	4%		
FB-5					4%	4%	4%	4%	4%	
FB-6	4%		4%		4%		4%		4%	
FB-7		4%		4%		4%		4%		4%
FB-8			4%		4%		4%		4%	
FB-9	3%	3%	3%	3%	3%					
FB-10	5%	5%	5%	5%	5%					

示例数据：优化补料的生产力

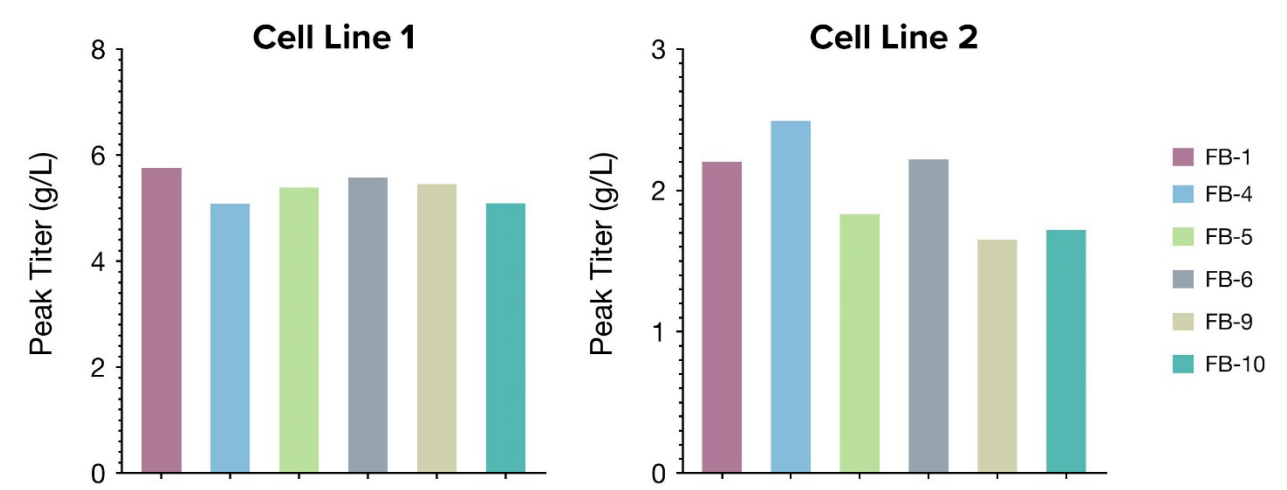


图1. 用 BalanCD CHO DG44 生长培养基与 BalanCD CHO Feed 4 使用不同的补料方式和体积的多个 DG44 细胞系的峰值滴度，使用不同的补料计划和体积。在为期 14 天的分批补料过程中，每隔一定时间对培养皿进行取样，并使用双层干涉测量法测量滴度。在不同细胞系和补料策略之间的细胞生产力是不同的，这表明需要优化每个细胞系的补料策略，正如细胞系 1 没有表现出显著差异，而与其他策略相比，细胞系 2 在峰值滴度方面从第 6 天至第 10 天的每日补料中受益。

相关产品

货号 #	产品名称	标准规格*
94134	BalanCD CHO Feed 4	1 L, 10 L
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

* 其他包装尺寸可根据要求提供

技术支持

联系我们

如需更多信息或协助，请联系客户服务：

邮箱: biopharma@fujifilm.com

直线电话: 021-68776130

网站资源

请访问<https://fujifilmbiosciences.fujifilm.com/us>获取技术资源和信息，包括：

- 安全数据表(SDS)
- COAs (如有)
- FAQs (如有)
- 产品文献
- 各国家完整的办事处列表和联系信息

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：021-50106000 转生命科学事业部