BIOENGINE 倍谙基生物科技

Eden F100aS 流加培养基

产品型号：F100aS

用户手册

目录

产品描述 2
应用范围 2
产品配方 2
产品保存 2
液体培养基配制 2
流加培养 3
灌流培养 4
相关产品 5

产品描述

Eden F100aS 流加培养基是上海倍谙基生物科技有限公司自主开发、研制和生产的化学成分明确、无蛋白、无动物源的流加培养基。该流加培养基适用于不同亚型中国仓鼠卵巢细胞（Chinese Hamster Overy cells，CHO）的流加培养和灌流培养过程。与 Eden 系列基础培养基（详见“相关产品”）联用，可支持细胞高密度生长及维持，实现更高水平的蛋白表达和质量。

应用范围

本产品可适用于 CHO-K1、CHOS、CHO DG44 及 CHO DUX11 等细胞的流加培养和灌流培养过程。

本产品可用于科学研究及生物药的大规模生产过程，但不能直接用于人体或医疗用途。

产品配方

Eden F100aS 流加培养基配方知识产权为上海倍谙基生物科技有限公司所有。

产品成分声明

本品包含：

- 碳水化合物、氨基酸、维生素、金属离子、核苷类物质等营养组分。
- 90.00 g/L 的葡萄糖，1.00 g/L 的 P188。

本品不包含：

- 水解物、细胞因子、谷氨酰胺、抗生素、HEPES、酚红等营养组分。
- 动物来源的原材料。

产品保存

- 保存于 2-8℃、干燥避光的环境中。
- 本产品极易吸潮，开封后应立即使用，如需继续保存使用，建议将袋中空气尽可能排尽后，采用热封、密封夹等手段严格密封开启处，以防产品受潮失效。
- 当本产品严重受潮结块或保存时间超过保质期，建议弃用。

液体培养基配制

定容配制

根据表 1 所示配方配制 Eden F100aS 流加培养基 [1]。

组分	浓度
Eden F100aS 流加培养基干粉	191.40 g/L [2]

表 1. Eden F100aS 流加培养基配制表

1) 按最终培养基配制体积的 80 %取相应体积的水至培养基配制容器。配液用水应使用纯化水、超纯水或注射用水，配制过程中水温应控制在 20-30 ℃。开启培养基配制容器的混合系统（建议混合系统单位体积输入功率大于 10 W/m^3），充分搅拌，搅拌时应避免气泡的产生。

2) 按 191.40 g/L 浓度比例准确称取相应质量的 Eden F100aS 流加培养基干粉，加入步骤 1）配制容器中，充分搅拌 20 min 以上。

3) 使用 5 -10 mol/L 氢氧化钠溶液将 pH 缓慢调节至 6.8-7.2，充分搅拌 15 min 以上，此时溶液应为澄清透明。

4) 使用配液用水定容至 100%配液体积，搅拌 10 min 以上。

5) 建议使用脉冲泵或压缩空气（3-15 psi）经 0.22μm 或 0.2 μm 孔径的聚醚砜（PES）无菌滤膜对 Eden F100aS 流加培养基溶液进行无菌过滤。

6) 过滤后的培养基液体应立即使用或存放于玻璃瓶、培养基瓶（PET）或具有隔氧涂层的一次性储液袋中，2-8℃的避光环境中，有效期为 2 个月。

注：

[1] 以上配液参数（如搅拌时间等）供研发小规模配液参考。大规模生产配液时，请根据配制容器的搅拌能力设置适当的配液参数，以便培养基干粉充分溶解。

[2] 上述 "g/L"单位均为体积浓度（溶质质量/溶液体积）。

定量配制

根据表 2 所示配方配制 Eden F100aS 流加培养基[3]。

组分	浓度
Eden F100aS 流加培养基干粉	179.78 g/kg[4]

表 2. Eden F100aS 流加培养基配制表

1) 按最终培养基配制重量的 80 %取相应重量的水至培养基配制容器。配液用水应使用纯化水、超纯水或注射用水，配制过程水温应控制在 20-30℃。开启培养基配制容器的混合系统（建议混合系统单位体积输入功率大于 10 W/m^3），充分搅拌，搅拌时应避免气泡的产生。

2) 按 179.78 g/kg 浓度准确称取相应质量的 Eden F100aS 流加培养基干粉，加入步骤 1）的配制容器中，充分搅拌 20 min 以上。

3) 使用 5 -10 mol/L 氢氧化钠溶液将 pH 缓慢调节至 6.8-7.2，充分搅拌 15 min 以上，此时溶液应为澄清透明。

4) 使用配液用水定量至 100%配液质量，搅拌 10 min 以上。

5) 建议使用脉冲泵或压缩空气（3-15 psi）经 0.22 μm 或 0.2 μm 孔径的聚醚砜（PES）无菌滤膜对 Eden F100aS 流加培养基溶液进行无菌过滤。

6) 过滤后的培养基液体应立即使用或存放于玻璃瓶、培养基瓶（PET）或具有隔氧涂层的一次性储液袋中，2-8℃的避光环境中，有效期为 2 个月。

注：

[3] 以上配液参数（如搅拌时间等）供研发小规模配液参考。大规模生产配液时，请根据配制容器的搅拌能力设置适当的配液参数，以便培养基干粉充分溶解。

[4] 上述"g/kg"单位均为质量浓度（溶质质量/溶液质量）。

液体培养基理化指标参考标准

指标	单位	参考标准
pH 值		6.8 – 7.2
渗透压	mOsm/kg	1300 – 1900
浊度	NTU	< 4.00

表 3. 液体培养基理化指标参考标准

流加培养

培养体系

摇瓶或摇管。

培养摇床的参数设置

培养温度为 37℃，5-8% CO_2，饱和湿度，摇瓶转速为 115-135 rpm，摇管转速为 215-225 rpm，细胞培养摇床的振幅为 50 mm。

流加策略

1) 将稳定传代的细胞以稀释方式直接接种于 Eden 系列基础培养基（详见"相关产品"）中，活细胞密度控制在 0.5-0.7×10^6 cells/mL。

2) 建议的流加策略[5]如表 4 所示。通过流加培养基 a 和葡萄糖浓缩液的方式将整个培养过程中残糖浓度控制在 2 g/L 以上。

3) 培养 14 天或者活性低于 50%时结束培养过程。

条件 维持最大活细胞密度	流加培养基[6]	D3	D5	D7	D9	D10	D11	D12	D13
小于 2×10^7 cells/mL	流加 a（%）	4	4	4-5	4-5	/	4-5	/	3-4
	流加 b（%）	按照流加 a:流加 b=10:1 的比例流加							
$2\sim3\times10^7$ cells/mL	流加 a（%）	4	4	5-6	5-6	/	4-5	/	4
	流加 b（%）	按照流加 a:流加 b=10:1 的比例流加							
大于 3×10^7 cells/mL	流加 a（%）	4	4-5	6	3-4	3-5	3-5	3-5	3-4
	流加 b（%）	按照流加 a:流加 b=10:1 的比例流加							

表 4. 推荐流加策略

注：

[5] 流加策略：a、可参考原工艺维持阶段最大活细胞密度以及对细胞生长情况的了解选择表 4 中推荐的流加方案；b、过程中存在降温操作，则应适当降低表 4 中推荐流加方案中的流加量；c、如选择提高接种密度，应适当提前第一次流加的时间；d、如已有优化的流加策略（含温度控制，pH 控制，流加策略等），可按照已优化的细胞培养工艺使用 Eden 系列培养基。

[6] 流加 a 即为 Eden F100aS 流加培养基，基础培养基和流加培养基 b 搭配详见“相关产品”或咨询倍谙基技术部门。流加培养基的流加量均以初始接种体积的百分比计算。

灌流培养

培养体系

摇管。

培养摇床的参数设置

培养温度为 37˚C，5-8% CO_2，饱和湿度，摇管转速为 250-300 rpm，细胞培养摇床的振幅为 50 mm，培养体积 10-15 mL/摇管。

灌流培养基配制

将 Eden 系列基础培养基（详见“相关产品”）和 Eden F100aS 流加培养基以 95:5 的体积比进行混合。

灌流策略

1) 将稳定传代的种子细胞以稀释接种的方式接种于 Eden 系列基础培养基中，活细胞接种密度为 0.4-0.6×10^6 cells/mL。待活细胞密度长至 3-5×10^6 cells/mL 后，开启灌流。

2) 具体灌流操作方法：每天通过离心的方式弃掉上清，并用与初始工作体积等量的灌流培养基重悬细胞，然后加入 0.5%（*v/v*）的流加培养基 b（详见“相关产品”）。

3) 当活细胞密度达到 10-20×10^6 cell/mL 以及 50-60×10^6 cell/mL，可适当提高灌流培养基中 Eden F100aS 流加培养基比例以及提高流加培养基 b 的添加量。

4) 灌流培养过程中应控制残糖浓度大于 2 g/L。

相关产品

产品名称	产品类别	产品货号	形态	体积	包装	备注
Eden B100S	基础培养基	FG0116401	粉体	200 L	袋	适用于 CHO-K1、CHOS、CHO DG44 及 CHO DUX11 等细胞的冻存、复苏、传代、流加培养以及灌流培养过程。 培养非 GS 系统细胞建议在基础培养基中添加 4-8mM 的 L-谷氨酰胺。 培养细胞因子依赖细胞建议在基础/流加培养基 a 中额外添加细胞因子。
		FG0116402	粉体	10 L	袋	
Eden F100aS	流加培养基 a	FG0116501	粉体	20 L	袋	
		FG0116502	粉体	1 L	袋	
Eden F100bS	流加培养基 b	FG0116601	粉体	20 L	袋	
		FG0116602	粉体	1 L	袋	

扫码了解 Eden 系列产品详情

如需了解更多产品和技术信息，就近联系倍谙基。
欢迎拨打 86-21-68582660
或登录 www.bio-engine.com.cn