

## VegaCHO™

全新化学成分确定 CHO 细胞培养基

—— 用于生物制药研发及生产



VegaCHO™ 是完全化学成分确定 (Chemically-defined) 基础培养基，不含水解物、蛋白及任何动物来源的成分，适合于不同亚型中国仓鼠卵巢细胞 (CHO-K1、CHOZN、CHO DG44 和 CHO-S 细胞) 高密度悬浮培养，可实现重组蛋白和单克隆抗体的高水平表达。VegaCHO™ 基础培养基与全新一代高性能补料 AltairCHO™ Feed 或 VegaCHO™ Feed 联用，可支持细胞高密度生长及活率维持，实现更高水平的蛋白/抗体表达和质量。

### 应用范围

VegaCHO™ 可应用于 CHO 细胞复苏、传代以及高密度流加培养。该基础培养基适用于科研和基于细胞培养的大规模生物制品的生产，但不可直接用于人体或作为药物使用。

### 储存运输方法

储存：2~8°C 冷藏，干燥避光保存

运输：常温 (液体)、冷藏 (干粉)

### 有效期

VegaCHO™ Medium 液体：12 个月

VegaCHO™ DPM 干粉：24 个月

### 液体培养基配制方法

VegaCHO™ 培养基不含谷氨酰胺和碳酸氢钠。

1. 取最终配制体积 90% 的超纯水，水温 25~35°C (注：一次性配制体积不低于 1L)；
2. 称量 21.00 g/L 干粉培养基，缓慢加入水中并搅拌，待粉末完全分散后，再继续搅拌 10 分钟，容器边缘残留干粉应将其全部冲入；
3. 称量 2.22g/L 碳酸氢钠，加入水中并搅拌；
4. 缓慢加入 5N NaOH 调节 pH 到 8.3-8.5，搅拌 20-30 分钟，此时应完全溶解；
5. 缓慢加入 5N HCl 将 pH 调回至 7.0；
6. 加超纯水定容到最终配液体积，继续搅拌 5 分钟，测 pH，用 5N NaOH 或 5N HCl 将 pH 调至 7.0；
7. 取样测渗透压，加入 NaCl 调节渗透压至 280±10 mOsm/kg (渗透压计算公式： $\text{NaCl 添加量 (g)} = \text{配液体积 (L)} \times (\text{280-检测值}) / 31.5$ )；
8. 继续搅拌 10 分钟，无菌过滤到合适容器。

### 干粉及液体培养基质量指标

产品指标	VegaCHO™ Medium	VegaCHO™ DPM
外观	红色透明液体	类白色或淡黄色、均一粉末
pH 值	7.0~7.5	7.0~7.5
渗透压(mOsm/kg)	270~300	270~300
溶解性	---	按配制规程操作溶解良好
内毒素(EU/mL)	<1.0	<1.0
细胞生长试验	符合细胞培养检测要求	符合细胞培养检测要求
无菌检查	应无菌生长	---

## 培养条件

温度 37°C，湿度 80%，5~8%CO<sub>2</sub>

摇床设置：转速 110-150rpm（振幅 50mm）

## 细胞复苏

1. 在 37°C 水浴中快速 (<2min) 融化冷冻的细胞；
2. 将冷冻管中的细胞液全部转移到 125mL 含有 30mL 预温过的 VegaCHO™ 培养基的摇瓶中；
3. 放入 37°C，5~8% CO<sub>2</sub>，转速 110~130rpm（振幅 50mm），湿度 80% 的摇床中培养；
4. 细胞至少传代 2 次，待其完全复苏，细胞倍增时间（Population Doubling Time, PDT）稳定后，可按计划进行后续操作。

## 细胞传代

1. 将 VegaCHO™ 培养基放入 37°C 条件下预热 20-30min；
2. 取细胞密度  $\geq 1 \times 10^6$  cells/ml、活率  $\geq 90\%$ 、处于对数生长期中期的细胞进行传代；
3. 按接种密度为  $0.5 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^6$  cells/L 的最终传代体积，计算所需种子液量；
4. 无菌转移所需量的种子液，添加至含所需体积的已预热的 VegaCHO™ 培养基的摇瓶中；
5. 将摇瓶放入温度 37°C，湿度 80%，转速 110~150rpm（振幅 50mm），5%~8%CO<sub>2</sub> 的细胞培养摇床中进行培养；
6. 每 2~3 天用新鲜的培养基按上述步骤进行传代培养。

## 细胞驯化

### 直接接种法

1. 对于可以直接接种的细胞，可以从无血清培养基中直接接种到 VegaCHO™ 培养基中，接种密度参考传代步骤，并需要依据具体情况而定。
2. 继续传代细胞，直到细胞稳定生长。
3. 传代几次后，细胞密度在接种的 3~4 天内达到  $2 \times 10^6$  cells/mL 及以上、细胞活率  $> 90\%$ ，且倍增时间稳定，此时可以认为细胞已被驯化成功。

### 梯度驯化法

1. 对于传统的生长在 5~10% 血清或无血清的细胞，采用梯度驯化法，接种密度  $3 \times 10^5 \sim 4 \times 10^5$  cells/mL。
2. 监测细胞生长情况，直到细胞密度达到  $\geq 2 \times 10^6$  cells/mL。
3. 用 VegaCHO™ 培养基：原始培养基=25:75 的比例稀释细胞。直到这个比例的培养基细胞生长良好，再进一步稀释培养。在接下来的每次操作中，提高 VegaCHO™ 培养基的比例，如下表所示。
4. 在完全使用 VegaCHO™ 培养基接种 3~4 天之后，活细胞计数应该至少达到  $2 \times 10^6$  cells/mL，细胞活性  $\geq 85\%$ 。此时，细胞已经驯化到 VegaCHO™ 培养基中。

VegaCHO™: 原始培养基 (%)	接种细胞密度 ( $\times 10^5$ cells/mL)	细胞生长评估	进行下一步前的验收标准
25 : 75	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /mL, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
50 : 50	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /mL, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
75 : 25	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /mL, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
90 : 10	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /mL, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
100 : 0	3 ~ 4	VCD & Viability	VCD $\geq 2 \times 10^6$ /mL, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages

### 细胞冻存

1. 准备处于指数生长的中期，细胞活率  $> 90\%$ ，状态较好的细胞。
2. 测定活细胞密度，计算所需的冻存培养基体积，最终细胞密度  $> 1 \times 10^7$  cells/mL。
3. 准备所需的冻存培养基 90% VegaCHO™ 培养基+10%DMSO，4°C 冷藏保存。
4.  $400 \times g$  离心 5 分钟，用冻存培养基重新悬浮细胞。
5. 根据项目具体需要，将悬浮液进行等分保存于适宜规格的冷冻管中。
6. 按照标准程序，对冷冻管进行自动或手工操作降温（每分钟降 1°C）。
7. 将细胞转移到液氮罐中保存。

## 订购信息

### 基础培养基

产品	产品号	类型	规格
VegaCHO™ Medium	P121662	液体	1000mL
VegaCHO™ DPM	P106390	干粉	10L / 50L / 100L

### 高性能补料

产品	产品号	类型	规格
VegaCHO™ Feed	P134305	液体	500mL
VegaCHO™ Feed DPM	P120826	干粉	10L / 50L
AltairCHO™ Feed	C675219	液体	500mL
AltairCHO™ Feed DPM	C679332	干粉	10L / 50L

### 超浓缩补料

产品	产品号	类型	规格
CDFS36	C217836	液体	500ml / 1000ml
CDFS36 DPM	C672069	干粉	1L / 2L / 5L / 10L / 50L / 100L

### 细胞培养添加剂

产品	产品号	类型	规格
OPM GAL+V2 半乳糖基化调节剂	S81912	液体	100mL / 1000mL
OPM-ACA 抗细胞结团剂	S0907001	液体	100mL / 500mL / 1000mL



上海奥浦迈生物科技股份有限公司  
 Shanghai OPM Biosciences Co., Ltd.

奥浦迈总部：上海市浦东新区紫萍路 908 弄 28 号楼  
 CDMO 服务基地：上海市浦东新区半夏路 100 弄 3 号楼  
 培养基&CDMO 生产基地：上海市奉贤区正博路 356 号 C3 & D3

021-6818 2622  
 service@opmbiosciences.com  
 www.opmbiosciences.com

