

EX-CELL® Advanced CHO Fed-batch Medium

Chemically defined、動物由来成分不含、L- グルタミン、ヒポキサンチン、チミジン不含 CHO 細胞用培地

液体：カタログ番号 14366C

粉末：カタログ番号 24366C

説明

EX-CELL® Advanced CHO Fed-Batch Medium は、Chemically defined の次世代培地です。本配合は、性能、物理的、規制上および安全設計の各仕様を含む 10,000 超のデータポイントの多変量解析を用いて開発されました。

本培地は、すべての商業生産用 CHO 細胞系列 (CHO-S、DuxB11、DG44、CHO-M、および CHOZN GS) のフェッドバッチ培養において優れたプラットフォーム性能を得るため、EX-CELL® Advanced CHO Feed 1 と併用するように設計されています。

使用目的

本製品は、バイオ製造業界における製造用途を目的としています。ヒトまたは動物業界用の *in-vitro* 診断用途は目的とされておらず、承認もされていません。

製品の取扱いおよび保存

液体培地が濁っていたり沈殿物を含んでいたりする場合は使用しないでください。粉末製品は、乾燥状態のまま 2 ~ 8°C で遮光保存してください。液体製品は、最長 1 年間、2 ~ 8°C で遮光保存してください。本培地の取扱いやサプリメントの添加には無菌技術を用いてください。安全データシート (SDS) を読み、取扱い上の注意に従ってください。適切な保護めがね、防護服、および保護手袋を着用してください。

使用方法

カタログ番号 24366C (粉末) の調製方法の指示

1. 必要な最終容量の 80% の Milli-Q® または同等の細胞培養用精製水を量ります。水温は 25 ~ 40°C とすることをお奨めします。攪拌しながら、粉末培地をゆっくりと添加して 22.09 g/L にします。
2. 15 分間、攪拌を続けます。若干の濁りが残ります。
3. pH を 5.0 に調整します。
4. 5 分間、攪拌を続けます。若干の濁りが残ります。
5. 1.9 g/L の炭酸水素ナトリウムを添加します。
6. 製品が透明になるまで、少なくとも 30 分間攪拌を続けます。
7. 95% 容量までメスアップします。
8. pH を 7.2 (7.1 ~ 7.3 の範囲) に調整します。
9. 98% 容量までメスアップします。
10. 浸透圧を測定し 280 - 320 mOsm/kg であることを確認します。
11. 100% 容量までメスアップします。
12. タンパク質低吸着フィルターメンブレンを使用して直ちにろ過滅菌します。(<0.22 ミクロン)
13. 製品は使用するまで 2 ~ 8°C で暗所に保存します。

EX-CELL® Advanced CHO Fed-Batch Medium の配合に、L- グルタミン、ヒポキサンチン、チミジンは含まれていません。無菌的に添加するサプリメントについて：

1. GS 選択を必要としない用途では、使用する前に最終濃度 2 ~ 8 mM の L- グルタミン (カタログ番号 59202C) を添加します。
2. DHFR 選択を必要としない用途では、使用する前に HT Media Supplement (カタログ番号 H0137) を添加します。

注：本製品の保存期間は、サプリメントの性質による影響を受ける可能性があります。

培養の開始

1. 37°C のウォーターバスで、凍結した細胞のバイアルを短時間で融解します (1 分未満)。
2. 融解した細胞全量を、37°C に温めた 30 mL の EX-CELL® Advanced CHO Fed-Batch Medium が入った 125 mL の振とうフラスコに無菌的に入れます。
3. 回転数 120 ~ 140 rpm のオービタルシェーカープラットフォーム (軌道直径 19 mm) で、37°C、5% CO₂、加湿環境下で培養します。
4. 回収後の最初の 2 回の継代では、細胞密度を 0.5 ~ 1 × 10⁶ viable cells/mL の間に維持します。以降は、通常の維持スケジュールに戻します。

継代

1. インキュベーターが 37°C、5% CO₂ に設定されており、湿度制御 (約 80%) 用の水があることを確認します。
2. EX-CELL® Advanced CHO Fed-Batch Medium を室温に戻します。
3. フラスコから少量の細胞培養サンプルを無菌的に取り出し、血球計算盤または自動セルカウンターを使用してトリパンブルー法で計数します。細胞の生存率が 90% 未満の場合は続行しないでください。注：細胞の生存率が 90% 未満の場合は、継続する前に条件のトラブルシューティングを行ってください。
4. 125 mL の振とうフラスコ 1 個あたり全量 30 mL の新しい EX-CELL® Advanced CHO Fed-Batch Medium に対して、播種密度 2 ~ 3 × 10⁵ cells/mL で新しいフラスコに播種するための培養細胞の容量を決定します。

5. 必要量の細胞培養液を無菌的に新しいフラスコに移し、あらかじめ温めた新しい培地を必要量加えます。
6. 120 ~ 140 rpm のオービタルシェーカーで、5% CO₂ の加湿した 37°C のインキュベーター内でフラスコを保温します。
7. 少なくとも週 2 回、上記のステップを繰り返して細胞を継代し、必要に応じて培養容積を拡大します。注：細胞を継代するとき、培地の持ち越しが最終容量の 25% を超えないようにしてください。持ち越しが 25% を超える場合は、遠心することをお奨めします。

凍結保存

1. 生存率 >90%、対数増殖期中期の培養液を必要量準備します。
2. 46.5% の cold EX-CELL® Advanced CHO Fed-Batch Medium、46.5% のアダプテーション培地および 7% のジメチルスルホキシド (DMSO) からなる凍結用培地を調製します。
3. 200 g で 5 分間遠心して細胞を収集し、上清を除去します。
4. 細胞ペレットを 5 × 10⁶ ~ 1 × 10⁷ cells/mL で凍結用培地に再懸濁します。
5. この懸濁液の 1 ~ 2 mL を滅菌済み凍結バイアルへ速やかに入れます。
6. 標準的な手順に従って、バイアルを凍結速度制御された凍結装置に設置します (1 分に 1°C 低下)。
7. 長期保存する場合はバイアルを液体窒素 (気相) に入れます。

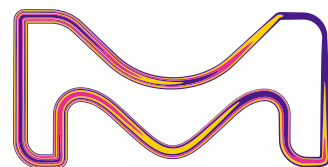
注文方法

追加情報につきましては、現地の代理店にご連絡いただくか、カスタマーサービスまでお電話ください。または、当社ウェブサイト (sigma-aldrich.com/CHOperformance) をご覧ください。

Facebook もチェック 

最新の技術情報や Webinar・イベント情報を配信!

メルク プロセスソリューションズ 



本紙記載の製品構成は諸般の事情により予告なく変更となる場合がありますのでご了承ください。本文中のすべてのブランド名または製品名は特記なき場合、Merck KGaA の登録商標もしくは商標です。本紙記載の内容は 2020 年 6 月時点の情報です。Merck, the vibrant M, and SAFc are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2020 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved. Original is Lit. No.MK-DS1786EN Ver.1.0

メルク株式会社

ライフサイエンス プロセスソリューションズ事業本部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.jp

製品・技術に関するお問合せ : PStechservice_JP@merckgroup.com

注文に関するお問合せ : PScommercialservice_JP@merckgroup.com

Tel: 03-4531-1143