

Cellvento® 4CHO

Chemically defined 細胞培養用培地

製品説明

Cellvento® 4CHO は Chemically defined の細胞培養用培地です。浮遊培養でのチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞の増殖や、モノクローナル抗体および組換えタンパク質産生のために開発されました。Cellvento® 4CHO は、Chemically defined、動物由来成分不含で、加水分解物などの組成不明な成分を含みません。また、L-グルタミンを使用していません。

用途

Cellvento® 4CHO 培地は、フェドバッチ培養における増殖用培地および生産用培地としてご使用いただけます。フェドバッチ製造プロセスでは、併用フィードサプリメントの Cellvento® 4Feed との組み合わせをお勧めします。

培地は、dhfr 遺伝子が導入された細胞などでも広く利用できるように、ヒポキサンチンおよびチミジンを含まれていません。フェドバッチプロセスにおいてグルコース濃度を微調整できるようにするため、フィードにはグルコースが含まれておらず、乳酸生成を低く抑えることが可能です。フィードにはシステインおよびチロシンの両方が含まれており、追加のアルカリ性フィードは不要です。

本製品は、研究またはその後の製造を目的としていますが、ヒトまたは治療用ではありません。

Cellvento® 4CHO培地10 Lの調製方法

- 適切なサイズの容器に入れた 8.0 L の Milli-Q® または同等の細胞培養グレードの水に、237 g の粉末をゆっくりと添加します。

- 必要に応じて培地の容器をすすぎ、残っている粉末を除去します。
- 30 分間、強く攪拌して溶解させます（溶液には若干の濁りが残ります）。
- 2 g/L の炭酸水素ナトリウムを添加して、溶解するまで攪拌します（～10 分間）。
- 細胞培養グレードの水を添加して、最終容量の 10 L とします。
 - 最終的な pH が 7.0 ± 0.3 であることを確認します。
- 溶液のオスモル濃度を測定します。最終的なオスモル濃度が 310 ± 30 mOsmol/kg であることを確認します。
- 0.22 μ m Millipore Express® PLUS もしくは Durapore®, ボトルキャップまたはカプセルフィルターを使用して、ろ過滅菌します。
- 2～8°C で遮光保存してください。
 - 溶解した Cellvento® 4CHO 液体培地は 90 日間以上安定しています。
 - サプリメントを添加した場合、液体培地は最長 4 週間安定しています。

注：この培地に L-グルタミンまたはヒポキサンチンおよびチミジンは含まれていません。必要に応じて使用前に無菌的に添加してください。

保存

- 乾燥粉末およびコンパクション培地は 2～8°C で遮光保存してください。
- 有効期限を過ぎたものは使用しないでください。

保存期間：12ヶ月

フェドバッチ培養における Cellvento® 4CHO 培地の使用

- GS 欠損 CHO 細胞株に使用する場合は、事前に 4 ~ 8 mM の L- グルタミンを Cellvento® 4CHO 培地に添加してください。
- dhfr 欠損システムで使用する場合は、事前に 1 × HT を添加してください。
- 本製品の使用に界面活性剤（Poloxamer など）の添加は必要ありません。
- シードトレイン拡大培養の際に、必要に応じて細胞選択剤を添加してください。一般に、フェドバッチでの生産培養ステップの際は、細胞選択剤を使用しないことが推奨されます。

培地へのダイレクトアダプテーション

細胞株を Cellvento® 4CHO 培地にダイレクトアダプテーションすることができます。細胞を $3 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ cells/mL で播種した

後、生存率が 80% 以上で細胞密度 $1 \times 10^6 \sim 3 \times 10^6$ cells/mL の時点で継代してください。少なくとも 2 ~ 3 回の継代にわたって細胞倍加時間（20 ~ 30 時間）が安定し、細胞生存率が 90% 以上であればアダプテーションは完了です。

第 1 世代の Cellvento® 製品のいずれかにアダプテーションおよび培養された細胞は、Cellvento® 4CHO で即時融解または培養することができます。

培地へのシーケンシャルアダプテーション

以下に記載するアダプテーションの手引きでは、対数増殖期の培養細胞を維持するために通常の細胞の継代を行っています。これは一般に 3 ~ 4 日ごとの細胞の継代を意味します。細胞が適切に新しい培地環境へ順応するように、各アダプテーションステップで少なくとも 2 回の継代を行うことが推奨されます。

現在の培地と Cellvento® 4CHO 培地の比率 (%)	播種密度 ($\times 10^5$ cells/mL)	細胞増殖の評価	次ステップへの移行基準
75:25	3.0	細胞密度、対数増殖期中期における生存率	正常な細胞倍加時間、最低2回の継代で生存率80%超
50:50	3.0	細胞密度、対数増殖期中期における生存率	正常な細胞倍加時間、最低2回の継代で生存率80%超
25:75	3.0	細胞密度、対数増殖期中期における生存率	正常な細胞倍加時間、最低2回の継代で生存率80%超
10:90	3.0	細胞密度、対数増殖期中期における生存率	正常な細胞倍加時間、最低2回の継代で生存率80%超
0:100	3.0	細胞密度、対数増殖期中期における生存率	少なくとも2回の継代にわたって正常な細胞倍加時間が得られ、生存率が90%以上であればアダプテーション完了

凍結保存

細胞を 90% の Cellvento® 4CHO 培地および細胞培養グレードの 10% のジメチルスルホキシド（DMSO）の中で凍結させて、生細胞バンクを作製することができます。

細胞凍結操作手順:

- クリーンベンチ内またはラミナーフードの下で、滅菌 DMSO および Cellvento® 4CHO 培地を体積比 1 : 9 で混合します。調製中に DMSO を希釈すると熱が放出されるため、凍結培地は事前に調製し、使用前は 2 ~ 8°C で保存してください。
- 対数増殖期中期の正常な形態の細胞を選択してください。細胞密度は 1.5×10^6 cells/mL 以上、生存率は 95% 以上である必要があります。
- 1200 ~ 1500 rpm で 5 分間（200 ~ 300 g）遠心します。
- 上清を除去し、冷却した凍結培地に $1 \times 10^7 \sim 2 \times 10^7$ viable cells/mL で細胞を再懸濁し、細胞懸濁液を 1 mL ずつ滅菌クライオバイアルに移します。

- イソプロパノールを入れた凍結用容器を使用する凍結手順：クライオバイアルをクライオボックスに入れて、以下の一連の手順に従って温度を下げて細胞を凍結します。

- 4°C で 30 分間
- -20°C で 2 ~ 4 時間
- -80°C で一晩
- 長期保存する場合は、バイアルを液体窒素タンクに移して保存します。

注：凍結手順は自動冷却装置を使用して標準化することができます。この場合、冷却速度を制御して、細胞懸濁液を 1 時間で 4°C から（通常は）-150°C へ冷却、凍結します。

細胞の融解および回収手順

- 細胞を融解するための 37°C のウォーターバスを準備します。
- クリーンベンチ内またはラミナーフードの下で、50 mL 遠心管に 10 mL の培地を調製します。
- CHO 細胞のクライオバイアルを液体窒素から 37°C のウォーターバスに移します。
- バイアルの側面から氷の粒が離れたらバイアルを取り出します (高温で高濃度の DMSO は毒性をもつ可能性があります)。

- CHO 細胞の懸濁液をクライオバイアルから遠心管に移し、1200 ~ 1500 rpm で 5 分間遠心します。
- 上清を除去し、播種密度が $3 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ cells/mL になるように、細胞を新しい培地 (Cellvento® 4CHO 培地) に再懸濁し、125 mL の三角フラスコに移して培養します。5% CO₂、湿度 80%、 1×10^6 cells/mL 以上で、37°C の CO₂ インキュベーターで細胞を培養します。以降は、標準的なプロトコールに従って細胞継代を行ってください。

Cellvento® 4CHOのご注文情報

カタログ番号	製品名	パッケージサイズ	当量
1.03795.0010	Cellvento® 4CHO COMP	0.237 kg	10 L
1.03795.0100	Cellvento® 4CHO COMP	2.370 kg	100 L

Cellvento® 4Feedのご注文情報

カタログ番号	製品名	パッケージサイズ	当量
1.03796.0005	Cellvento® 4Feed COMP	0.651 kg	5 L
1.03796.0010	Cellvento® 4Feed COMP	1.304 kg	10 L
1.03796.0050	Cellvento® 4Feed COMP	6.518 kg	50 L

細胞培養添加剤のご注文情報

カタログ番号	製品名	パッケージサイズ
1.37020.5000	水酸化ナトリウム (粒状)、バイオ医薬品製造用、EMPROVE® bio	5 kg
1.37013.2500	炭酸水素ナトリウム、バイオ医薬品製造用、EMPROVE® bio Ph Eur、BP、USP、JP	2.5 kg
1.00286.1000	L-グルタミン、賦形剤用、EMPROVE® exp DAB、USP	1 kg

無菌フィルターのご注文情報

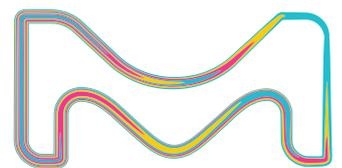
	Bacteria Removal	Mycoplasma & Bacteria Removal	Virus, Mycoplasma & Bacteria
Volume (L)	Millipore® Express SHC	Millipore® Express SHR with Prefilter	Viresolve® Barrier
5	KHGES015FF3	KHVES015FF3	VBKG005TC1
10	KHGES015FF3	KHVES015FF3	VBKG015TC1
50	KHGES003FF3	KHVES006FF3	BKG050TC1

Cellvento™ CHO培地プラットフォームの各製品に関する詳細は、www.emdmillipore.com/cellvento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 9 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. DS9502EN00 Ver. 2.0

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