

# 适用于 Vero 细胞的 HyClone™ VaccineXpress 细胞培养基

HyClone™ VaccineXpress 细胞培养基专为高密度生长和维持肾衍生细胞系（例如 Vero 细胞）而设计和开发，用于病毒疫苗生产。VaccineXpress 不含血清 (SF)、动物源性成分 (ADCF) 和人类源性成分。这种培养基已被证明可以用微载体培养依赖附着的 Vero 细胞，用于生产流感、寨卡病毒、登革热和呼吸道合胞病毒 (RSV) 等疫苗。培养基中缺乏血清和动物源性成分降低了工艺的可变性。它还增强了 BioProcess 应用中纯化重组蛋白和病毒的可扩展性和简易性。VaccineXpress 的配方不含 L- 谷氨酰胺，可延长保质期。它有多种规格，包括液体和粉末形式（图 1）。

VaccineXpress 培养基非常适合从平面培养介质转移到 WAVE Bioreactor™ 或 Xcellerex™ 生物反应器中的大规模微载体培养物的应用。

VaccineXpress 培养基的主要特征

- SF、ADCF
- 旨在支持高细胞密度、在高病毒滴度方面表现更优
- 允许直接或间接驯化适应
- 旨在支持微载体培养
- 提供液体和粉末形式
- 适用于小规模 and 大规模培养应用

## 规格

### 液体培养基

- 含碳酸氢钠
- 不含 L- 谷氨酰胺
- 不含泊洛沙姆 188
- 不含酚红

### 粉末培养基

- 不含碳酸氢钠
- 不含 L- 谷氨酰胺
- 不含泊洛沙姆 188
- 不含酚红



图 1. VaccineXpress 细胞培养基能够以液体或粉末形式提供，包装尺寸适合小体积细胞培养和大规模生物加工应用。

## 产品处理

该培养基（粉末和液体形式）应储存在 2°C 至 8°C 的温度下，远离光线。

## 建议制备

### 液体培养基

添加 L- 谷氨酰胺后，液体培养基可以立即使用。加入无菌过滤的 L- 谷氨酰胺。我们建议最终浓度为 4 mM。

## 粉末培养基

1. 加入量为最终制备体积 80% 的细胞培养级用水，在搅拌的同时，将 11.65 g/L 粉末培养基加入到细胞培养级水中。因为水源通常是冷水，调节水温会有用。使用较暖的室温水（20°C 至 25°C）将改善溶解时间。混合 10 到 15 分钟或直到溶解。
2. 加入碳酸氢钠 (2.0 g/L)，混合直至溶解。根据需要，用 HCl 或 NaOH 调节至 pH 7.0–7.2。
3. 用细胞培养级水将容器调节至最终体积。让溶液再混合 15 分钟。
4. 检查 pH 和渗透压，必要时进行调整。期望值：
  - pH 7.0–7.2
  - 渗透压 280–310 mOsm/kg
5. 通过 0.22 µm 的无菌过滤器将培养基过滤到所需的容器中。

## 制备说明

如果培养基是短期储存的，可以在步骤 2 中加入 L-谷氨酰胺（最终浓度为 4 mM）。对于更长的储存时间，我们建议在培养时加入 L-谷氨酰胺。水合后，不含 L-谷氨酰胺的培养基可在 2°C 至 8°C 的温度下避光保存 6 个月。

## 一般培养建议

1. 在 37°C 和 5% CO<sub>2</sub> 环境中孵育培养物。
2. 通过使传代细胞处于对数生长期来维持驯化的细胞。
3. 我们建议以 3~5 × 10<sup>4</sup> cells/cm<sup>2</sup> 的密度接种细胞；细胞活率应该 > 90%。
4. 为了保持完全无血清和无动物源的工艺，我们建议使用重组胰蛋白酶（例如 Sheffield™ rTrypsin ACF）。
5. 详述细胞分离程序超出了本文件的范围。使用标准技术。请注意，如果使用胰蛋白酶，无血清条件下必须使用胰蛋白酶抑制剂、细胞洗涤步骤或一次（或多次）培养基更换。

## 微载体培养的注意事项

已经对 VaccineXpress 进行了广泛的测试，以在 Cytiva 的 Cytodex™ I Gamma 微载体上培养细胞。很有可能与其他类型的微载体兼容，但尚未进行评估。

当使用任何类型的微载体时，我们建议添加 2.0 g/L 泊洛沙姆 188 作为剪切保护剂。

如同正常的无血清静态培养一样，使用胰蛋白酶进行分离需要用大豆胰蛋白酶抑制剂 (STI) 进行中和。残留的胰蛋白酶会对细胞培养产生负面影响，但残留的 STI 也会产生负面影响。大多数 STI 制造商建议使用与所用胰蛋白酶等体积（1 mg/mL 溶液）的溶液，这在静态培养中效果很好，在静态培养中，所有 STI 都可以轻松去除。然而，在微载体培养中，我们建议使用较少的 STI（体积比为 1:5 而不是 1:1），因为很难完全去除它。

## 直接驯化适应 \*

1. 将在当前培养基中生长的细胞以 5.0×10<sup>4</sup> cells/cm<sup>2</sup> 的密度直接转移到 VaccineXpress 培养基中。
2. 当细胞密度达到约 80% 融合时，分离细胞并在 VaccineXpress 培养基中传代培养，并继续进行两次传代。
3. 细胞应在融合的基础上进行传代培养，通常为 72 至 96 小时。
4. 直接适应一般用这种培养基效果很好；如有必要，转到间接驯化适应。

## 间接驯化适应 \*

培养基制备：将当前使用的培养基与等体积的 VaccineXpress 培养基混合。这构成了原始培养基和新培养基比例为 50:50 的混合体。

1. 保持一个具有当前可接受增长率的储瓶。如果对新培养基的适应停滞不前，或者下降到不可接受的增长率，在当前条件下，再重复一次或两次。
2. 以 3–5×10<sup>4</sup> cells/cm<sup>2</sup> 的接种浓度将细胞传代培养到混合物中。为了获得最佳结果，培养物对于粘附的 Vero 细胞应该是大约 80% 的融合，并且细胞活率应该 > 90%。
3. 当细胞达到约 80% 的融合密度时，以 3–5×10<sup>4</sup> cells/cm<sup>2</sup> 的接种密度传代培养至原始培养基和新鲜 Hyclone™ 培养基（原始培养基与新培养基的比例为 25:75）的另一混合物中。
4. 继续传代，降低原始培养基的浓度，增加新培养基的浓度。在原始培养基在混合物中的浓度达到 12.5% 后，切换到直接 VaccineXpress 培养基应该可行。一般来说，细胞会在 3 到 4 代内适应（我们建议至少 6 次群体倍增）

\* 这些程序假设细胞已经适应无血清培养基。从含血清培养基中适应可能需要额外的时间和注意力。

## 细胞冻存

有几种细胞冻存和复苏方案；请遵循内部推荐的程序。适应的细胞可以在含 10% DMSO 的 VaccineXpress 培养基中冷冻保存。我们建议以  $1 \times 10^7$  cells/mL 的最小细胞密度冻存细胞。

## 质量控制测试

质量控制测试规范列于表 1。

表 1. 测试规范<sup>1</sup>

### 液体培养基

外观	透明溶液
渗透压	280 到 310 mOsm/kg
pH	7.0 至 7.2
无菌	无生长 (细菌或真菌)
内毒素	< 1 EU/mL

### 粉末培养基

外观	灰白色粉末
内毒素	< 10 EU/g
促进增长	传代

## 定制生产

配方和输送系统可根据您的具体工艺要求进行定制或优化，以最大限度地提高工艺产量。

### 快速反应生产 (RRP)

使用我们的非 cGMP RRP 服务，加快您的生物制药生产过程中定制培养基、缓冲液和加工液的开发和测试。RRP 可以在订购后七天内制造多达 200 L 或 20 kg 的定制原型配方。

## 订购信息

VaccineXpress 培养基以最高 10,000 升的均质液体批量和最高 250,000 升的粉末批量生产。

产品描述	包装尺寸	产品代码
	10 L (HDPE 瓶)	SH31127.01 <sup>†</sup>
Hyclone™ VaccineXpress 粉末培养基*	50 L (HDPE 瓶)	SH31127.02 <sup>‡</sup>
	100 L (HDPE 瓶)	SH31127.03 <sup>‡</sup>
	500 L (塑料袋/桶)	SH31127.04 <sup>‡</sup>
	1000 mL (PETE 瓶)	SH31126.01 <sup>†</sup>
	10 L (bioprocess 容器)	SH31126.02 <sup>‡</sup>
Hyclone™ VaccineXpress 液体培养基	20 L (bioprocess 容器)	SH31126.03 <sup>‡</sup>
	50 L (bioprocess 容器)	SH31126.04 <sup>‡</sup>
	100 L (bioprocess 容器)	SH31126.05 <sup>‡</sup>
产品描述	包装尺寸	产品代码
左旋谷氨酰胺 200 mM	100 mL 瓶	SH30034.01 <sup>†</sup>
	500 mL 瓶	SH30034.02 <sup>†</sup>
左旋谷氨酰胺粉末	500 g	SH30336.03 <sup>‡</sup>

\* 包装中的粉末足以使液体培养基的体积等于标签上标明的体积。

<sup>†</sup> 库存物品。

<sup>‡</sup> 物品定制生产。订货交付时间和最小订单数量适用。

[cytiva.com.cn](http://cytiva.com.cn)

Cytiva 和 Drop 标识是 Global Life Sciences IP Holdco LLC 或其附属公司的注册商标。HyClone、WAVE Bioreactor、Xcellerex 和 Cytodex 是 Global Life Sciences Solutions USA LLC 或作为 Cytiva 开展业务的附属公司的商标。所有其他第三方商标都是其各自所有者的财产。

© 2021 Cytiva

所有商品和服务的销售需遵守在 Cytiva 运营之供应商公司的销售条款和条件。

如需查看当地办公室的联系信息，请访问 [cytiva.com.cn/contact](http://cytiva.com.cn/contact)。

CY23691-01Dec21-DF

