珠海恺瑞杂交瘤补料使用说明书（2.1版）

杂交瘤细胞补料主要通过提高培养渗透压及补充营养物质的方法提高抗体生产分泌量，不同类型的细胞以及表达不同蛋白的同类型细胞补料添加方式都略有不同，用户可参考以下两种方案进行测试，最终摸索出最优化的使用方案。

**补料试剂使用保存注意事项：**

1. **切勿紫外照射；**
2. **无需预热处理，可直接从冰箱取出使用；**
3. **储存时尽量使用医用冰箱，以确保恒温效果，切勿冷冻；**
4. **定期检查产品过期日期，并在过期前使用完或更换新的补料，避免使用过期补料导致细胞生长异常或失败。**

# 成份说明

1. 渗透压调节剂（产品号K80009）：高浓度盐溶液
2. KT-Feed（产品号K40001）：富含蛋白胨的植物水解物
3. KDFeed-Opti补料（产品号K40002）：化学限定无血清培养基补料，不含蛋白或蛋白水解物质，KDFeed-Opti补料含B液和C液：

B液（23X）：碱性溶液，内含中性不溶氨基酸

C液（22X）：内含葡萄糖及其它不同个性化补料添加成分

# 添加方案

**方案一：使用渗透压调节剂及KT-Feed**

## 添加比例：（补料液：培养液）

渗透压调节剂：1：100 KT-Feed：1:50

## 添加方式：

接种细胞，接种密度因细胞而异，通常在细胞密度达到2.0×106 cells/m左右开始添加第一次，按上述推荐比例添加，细胞活性下降至60%或以下时可进行收样。

**添加方式一：根据以上推荐比例，分两次添加。**

1. 添加第一次：细胞密度达到2.0×106 cells/ml左右，添加第一次，按比例添加渗透压调节剂及KT-Feed；
2. 添加第二次：细胞密度达到4.0-5.0×106 cells/ml左右，添加第二次，按比例添加渗透压调节剂及KT-Feed。

**添加方式二：每天检测培养液的渗透压，通过添加添加液使培养液滲透压维持在380-400 mOSM之间（细胞生长过程中会导致培养液的渗透压降低）。**

**方案二：使用细胞培养基补料KDFeed-Opti（详细使用方案可参考”珠海恺瑞细胞培养基补料KDFeed-Opti使用指南”**

## 添加比例（推荐使用范围）

每次的添加比例如下：（补料液：培养液）

B液：1:80-1:20，推荐添加比例：1:69

C液：1:80-1:20，推荐添加比例：1:66（为高渗透压溶液，可通过控制使用量来调整培养液渗透压）

客户可根据实际效果进行调整。

## 添加方式

接种细胞，接种密度因细胞而异，通常在细胞密度达到2×106 cells/ml左右开始添加第一次，按上述推荐比例添加，细胞活性下降至60%以下时可进行收样。以下三种添加方式可供参考。

1. 添加方式一：根据上述推荐添加比例每天补加一次，可以持续补加2-3次
2. 添加方式二；根据上述推荐添加比例隔天补加一次，可以持续补加2-3次
3. 添加方式三：每天检测培养液的渗透压，通过添加添加液使培养液滲透压维持在380-400 mOSM之间（细胞生长过程中会导致培养液的渗透压降低）。

客户也可根据实际情况和经验进行调整。