

4Cell[®] CHO 培地&フィード ポートフォリオ CHO細胞株を用いたタン パク質生産用



製品情報

ザルトリウスのCHO培地ポートフォリオは、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）およびその他の哺乳類細胞株の培養のために開発されました。CHO細胞は、組換えタンパク質の安定発現と一過性の発現の両方に使用することができます。

当社のCHO培地ポートフォリオは、Batch, Fed-batch, Perfusion培養において、最も一般的なCHO細胞株に適した7種類の培地と6種類のコンパニオンフィードを含んでいます。

CHO細胞培養用培地とフィードは、高効率なタンパク質発現と異なるクローンの個別特性をサポートします。プロセスの最適化タイムラインの短縮、細胞密度の向上、高力価の生産に貢献します。

特徴と利点

- 培地開発を加速させる幅広い製品の選択肢
- 供給を保証するザルトリウスのグローバル製造ネットワーク
- 100%化学組成既知、動物成分フリー、血清フリー、加水分解物フリーで再現性が高い
- すぐに使用できるカタログ品に加え、カスタマイズ可能で柔軟性が高い
- 高い過性および溶解性の培地とフィード

関連アプリケーション

- モノクローナル抗体（mAb）およびバイオシミラー
- 組み換えおよび融合タンパク質
- 標準およびIntensifiedプロセス
- 一過性および安定発現

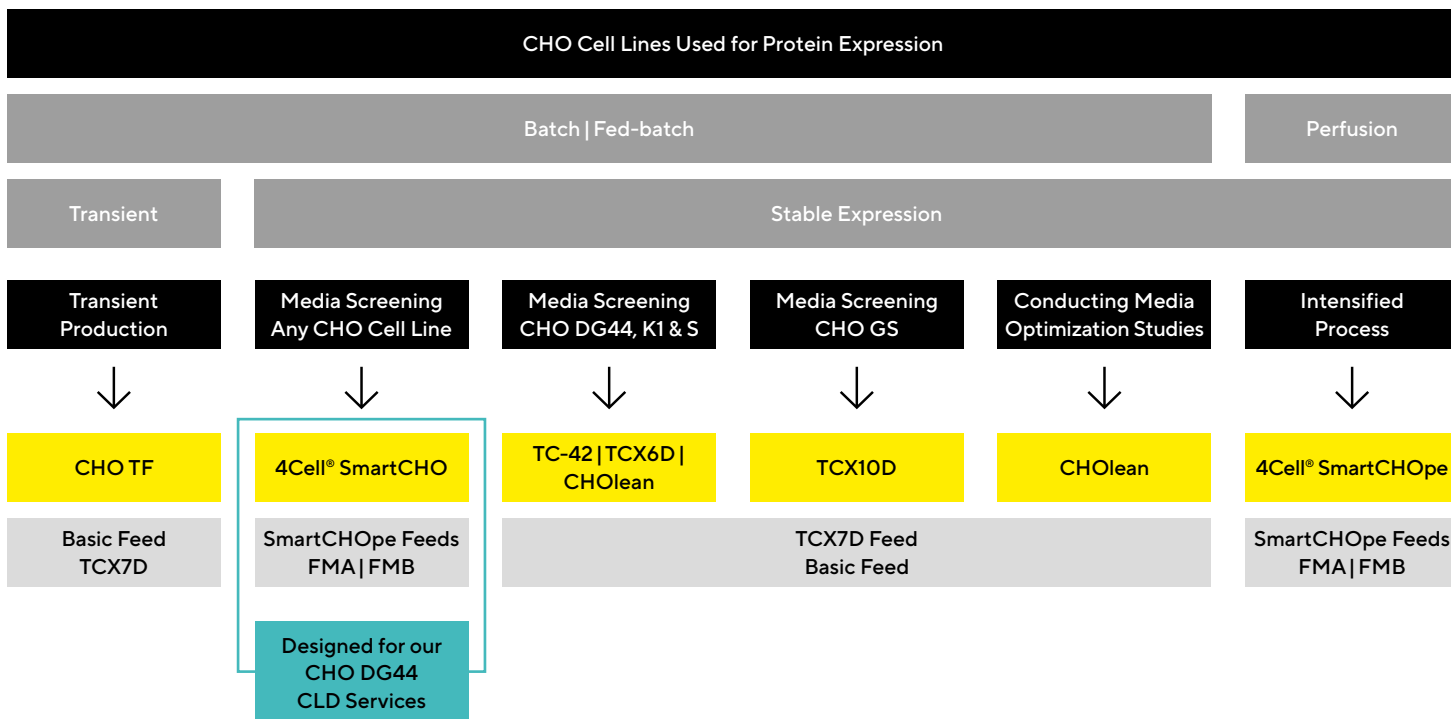
関連プロセスステップ

- **細胞株開発およびセルバンク製造**
細胞融解、馴化、成長、トランスフェクション、タンパク質生産のためのオールインワンソリューションで、複数の種類の培地は不要です。
- **プロセス開発**
当社の培地をAmbr®システムで使用することにより、最適化された予測的なプロセスが可能になり、大規模で高収率なバイオ製造につながります。特にCHOlean培地は、培地最適化研究に最適です。
- **バイオ医薬品製造**
Batch, Fed-batch, Perfusion 培養に適応
- **シードトレイン培養**
高密度培養でも安定した細胞成長および高い生存率をサポートする培地です。

シンプルな培地選択

最適な細胞培地とフィードの組み合わせは、使用用途や細胞種、生産方法によって影響されます（Figure 1）。

Figure 1: 培地選択を簡略化するDecision Tree



アプリケーション

組換えタンパク質の高発現を目的とした細胞の*in vitro*培養には、さまざまな培地調製法が用いられてきました。組換えタンパク質の生産に用いられるバイオプロセスは、安全性の観点から厳しい規制下にあり、中でも培地中の動物由来成分の使用は最大の懸念事項となっています。当社の培地は、化学的に規定された動物由来成分を含まない処方であるため、当社の培地を使用したバイオプロセスは、これら規制のハードルを回避することができます。

ザルトリウス社の培地ポートフォリオは、生体分子の生産において現在最も広く使用されている細胞種であるCHO細胞の培養をサポートしています。当社のCHO培地は、様々なCHO細胞のサブタイプの高密度懸濁培養をサポートするために設計され、最適化されています。各CHO培地とそのフィードは、浮遊培養でのCHO細胞発現システムでの使用に特化して設計されていますが、他のCHO細胞タイプにも適している場合があります (Figure 1)。

培地スクリーニングは時間がかかるものですが、細胞株の可能性を最大限に引き出す適切な培地とフィードを見つけることは、堅牢な成長パフォーマンスと高い製品収率を促進するために必要です。当社の包括的なCHO培地ポートフォリオは、培地開発を加速させ、それぞれのアプリケーションに最適な培地を見つける可能性を高めます。細胞株とアプリケーションに最も適合する培地とフィードを特定するために、ベンチマーク試験を実施することをお勧めします。



パフォーマンス

4Cell® SmartCHO | 先進的で高パフォーマンスのCHO培地

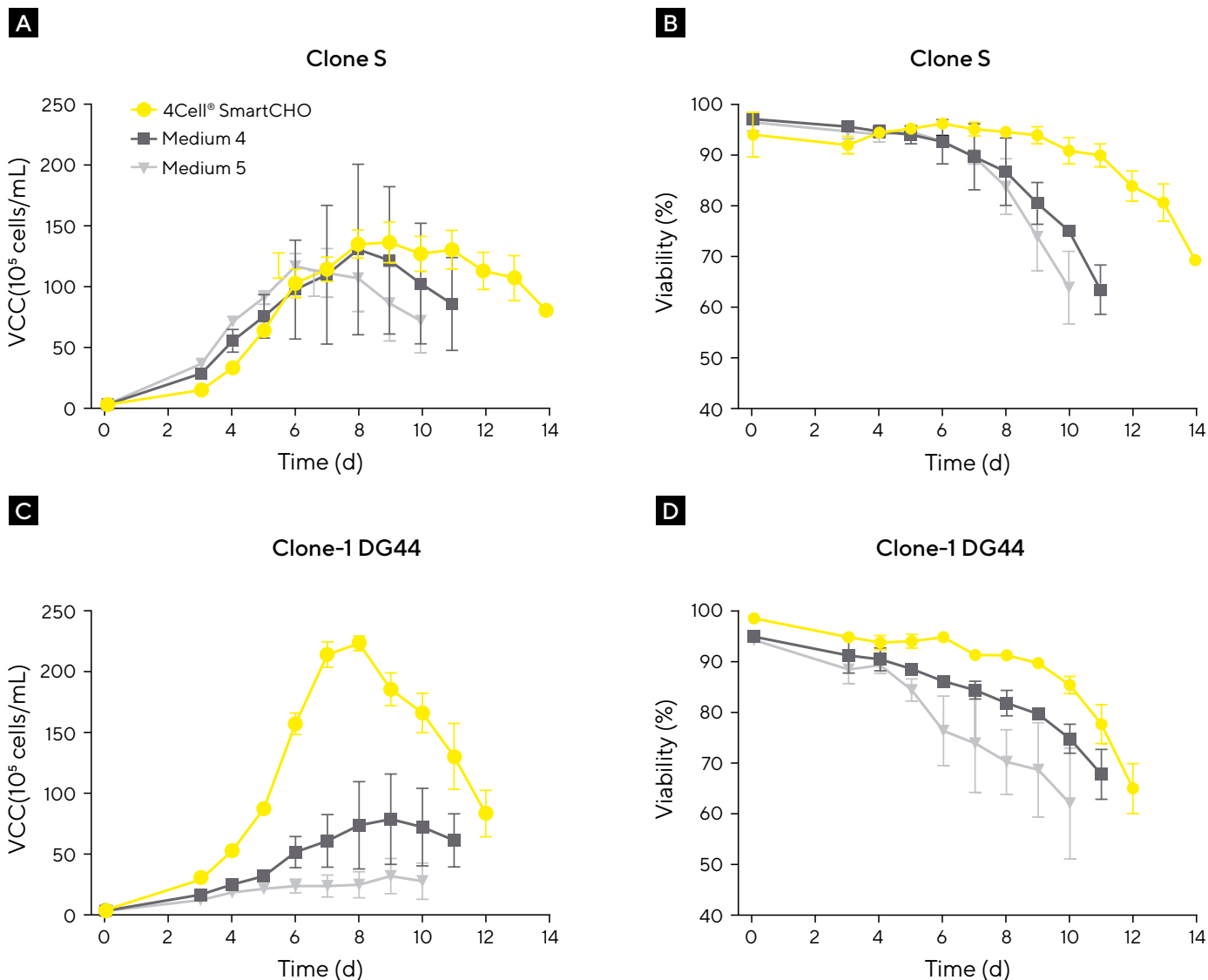
4Cell® SmartCHOは、Fed-batchアプリケーションでの堅牢な性能とPerfusionプロセスへの移行が容易なことから、あらゆるCHO細胞株のための最適な培地です。

4Cell® SmartCHO培地およびフィードシステムは、CHO細胞株の堅牢な増殖と高い生産性を実現します。CHO DG44細胞に焦点を当てて開発されましたが、基礎培地とフィードは、mAb、二重特異性、Fc融合タンパク質を含む幅広いCHO細胞株と製品形態で成長をサポートすることが実験により確認されています。

4Cell® SmartCHO培地およびフィードのFed-Batch培養性能を市販培地と比較して評価するため、CHO-DG44細胞株を用いてベンチマーク試験を行いました (Figure 2-8)。更にCHO-S, CHO-K1, CHO-GSクローンを用いてAmb® 15で培養し、培地及びフィードの性能を検証しました。

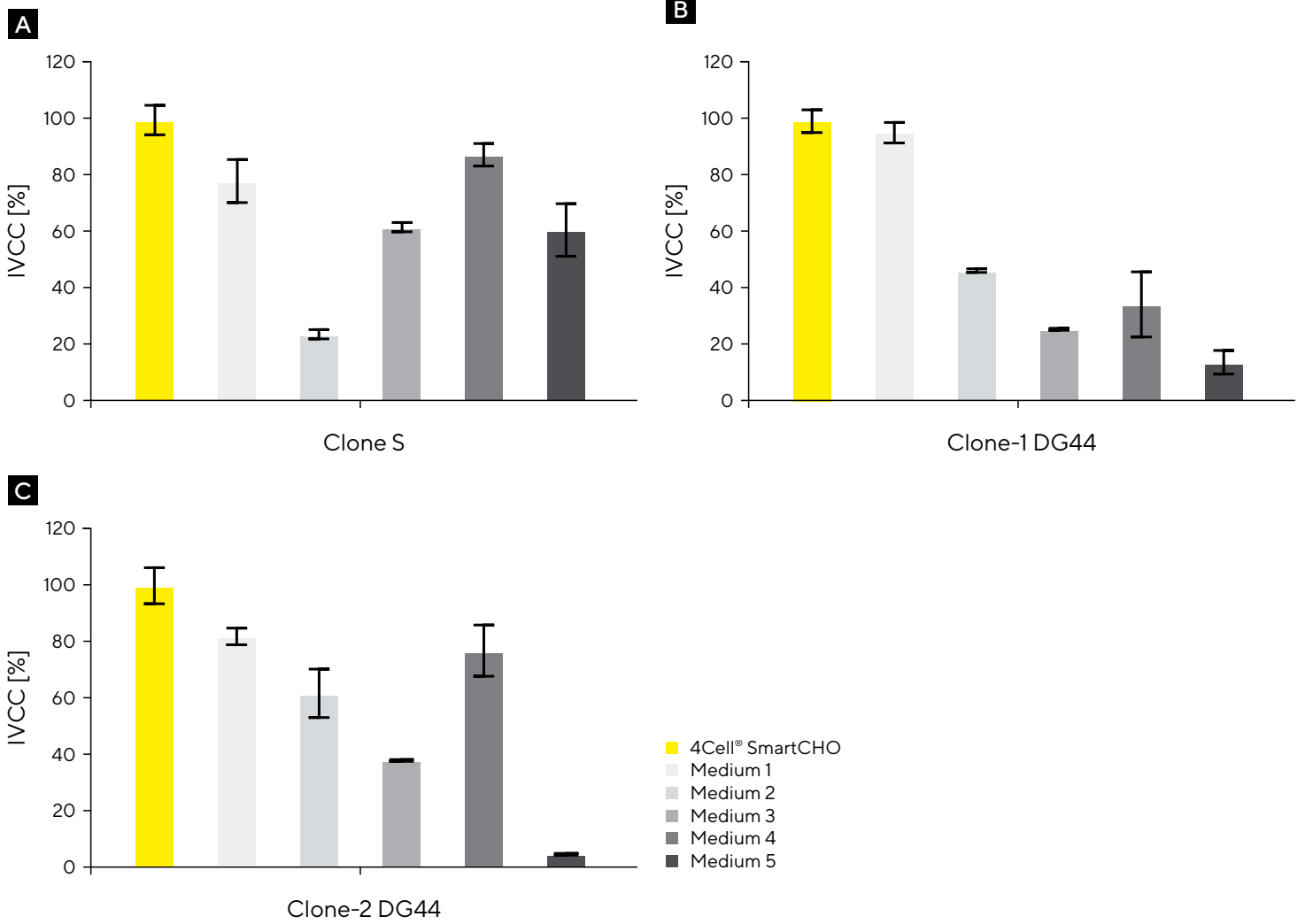
4Cell® SmartCHO培地は、市販の培地と同等以上のパフォーマンスで、CHOクローンの堅牢な成長をサポートします (Figure 2, 3)。

Figure 2: 2種のCHOクローンを4Cell® SmartCHOまたは市販培地で培養時の生細胞密度および生存率



Note. (A & B) CHO-S and (C & D) CHO-DG44 cells. Cells were adapted to the media for four weeks prior to testing. (A & C) Viable cell count (VCC) and (B & D) percentage viability was measured daily for 14 days.

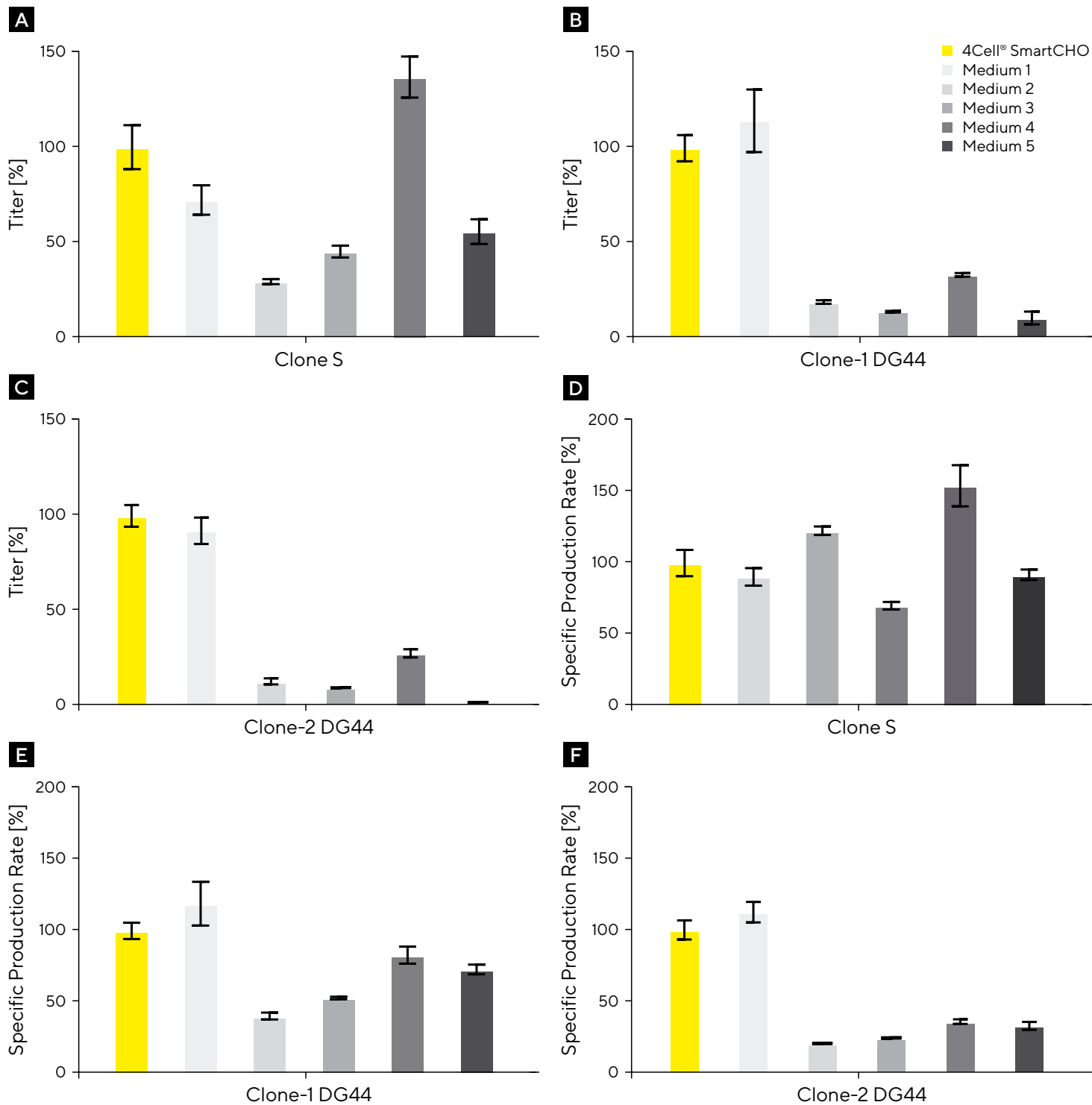
Figure 3: 3種のCHOクローンを4Cell®SmartCHOまたは市販培地で培養時の相対的な細胞成長成長率



Note. (A) CHO-S, (B) Clone 1 CHO-DG44, (C) Clone 2 CHO-DG44. Relative growth is shown as integrated viable cell concentration (IVCC).

CHO細胞の生産性はクローンや培地によって大きく異なるため、細胞株や用途に応じて複数の培地、フィード、パラメーターをスクリーニングする必要性が強調されています (Figure 4)。

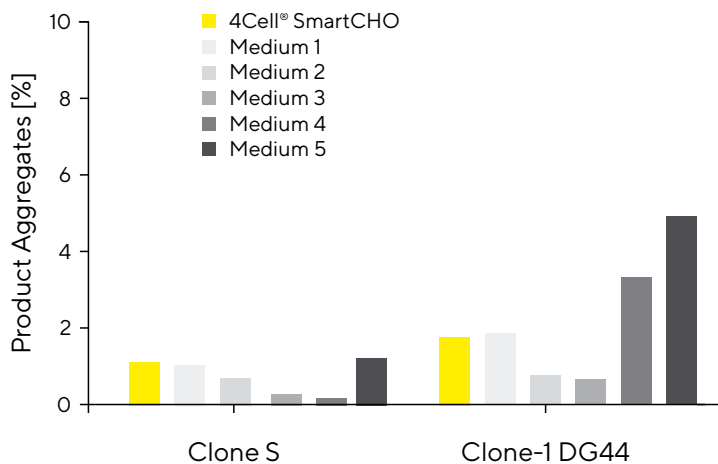
Figure 4: 3種のCHOクローンを4Cell® SmartCHOまたは市販培地で培養時の相対的な力価および細胞特異的生产性



Note. (A-C) Titer [%]; (D-F) Specific Productivity Rate [%]. (A+D) CHO-S, (B+E) Clone 1 CHO-DG44, (C+F) Clone 2 CHO-DG44 were cultured in 4Cell® SmartCHO and five commercial media.

細胞培養の培地は、製品の品質属性に大きな影響を与えます。サイズ排除クロマトグラフィーによる検証で、CHO-Sは若干の変動がありました。一方CHO-DG44 (clone 1) では、4Cell® SmartCHOは低い凝集レベルをサポートしました (Figure 5)。

Figure 5: 4Cell® SmartCHOまたは市販培地で培養時の製品凝集率



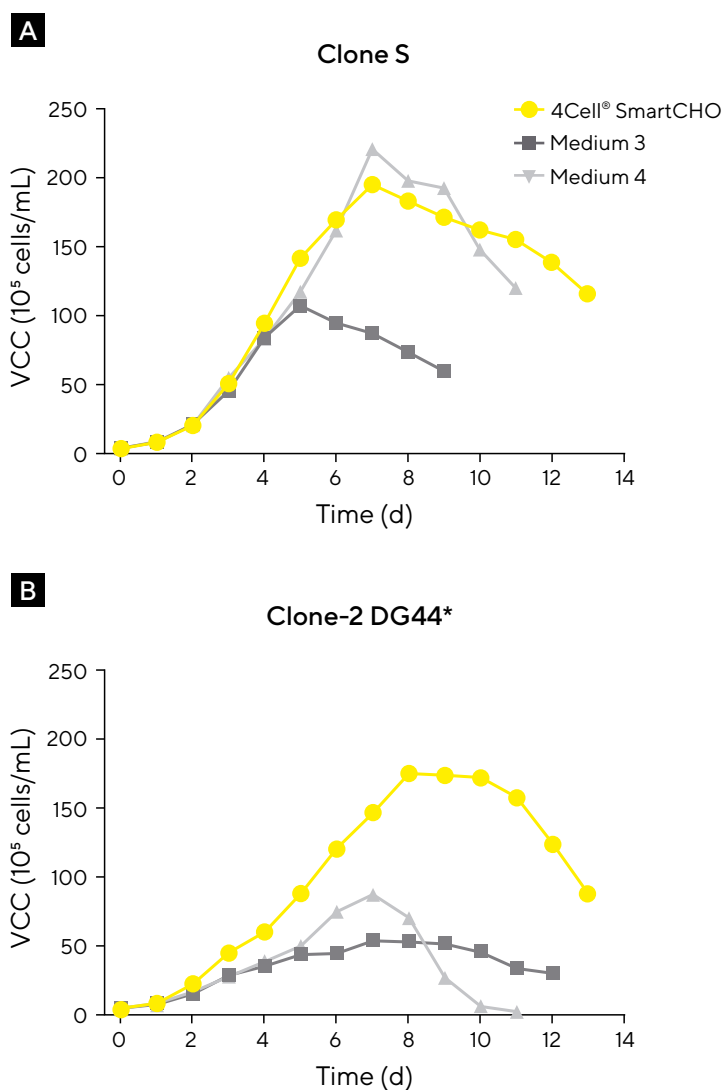
Note. Product aggregation determined by size exclusion chromatography.

スケーラブルなパフォーマンス

細胞培養培地の性能は、スケール間で一貫している必要があります。4Cell® SmartCHO培地は、5Lのバイオリアクターで培養を行った場合、堅牢でスケーラブルな増殖性能を示しました (Figure 6)。

4Cell® SmartCHOは大容量培養において、高い細胞特異的生産性 (Figure 7B) と低い凝集体形成 (Figure 8) を伴う高力価 (Figure 7A) の生産をサポートしました。この挙動は、異なる製品クラスでも確認されました (IgG1およびIgG4, Data not shown)。

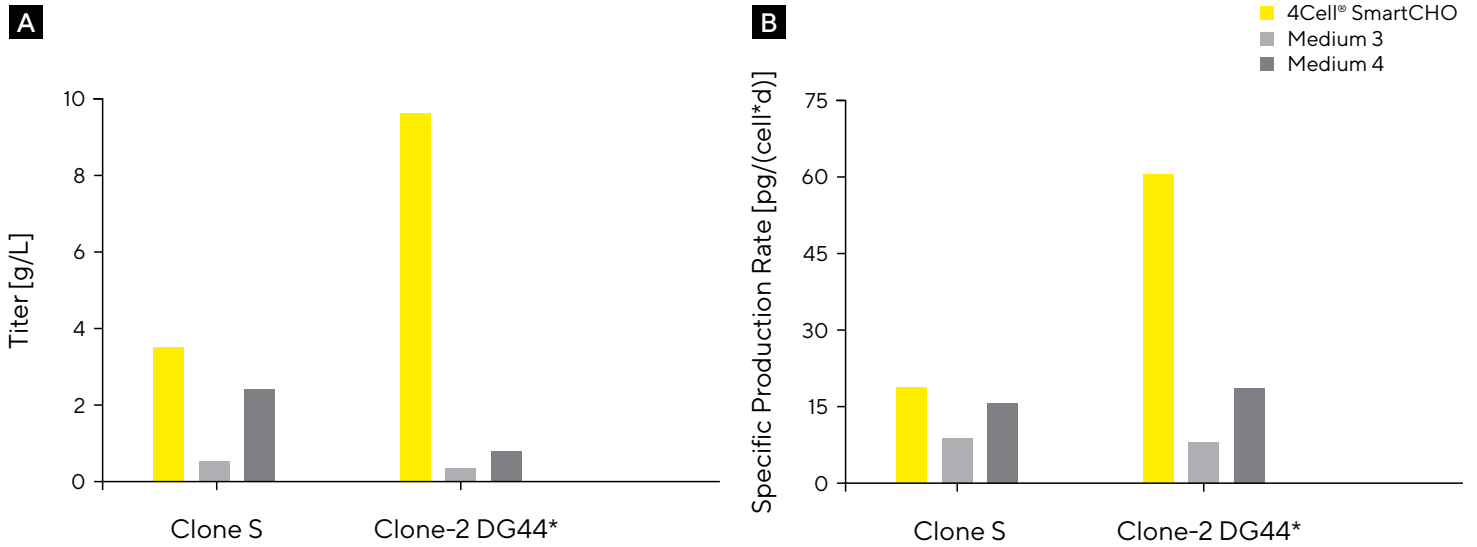
Figure 6: 5Lバイオリアクターにて2種のクローンを4Cell® SmartCHO培地で培養時の生細胞数



Note. (A) CHO-S and (B) CHO-DG44 cells. Cells were adapted to the media for four weeks before testing. VCC = viable cell count.

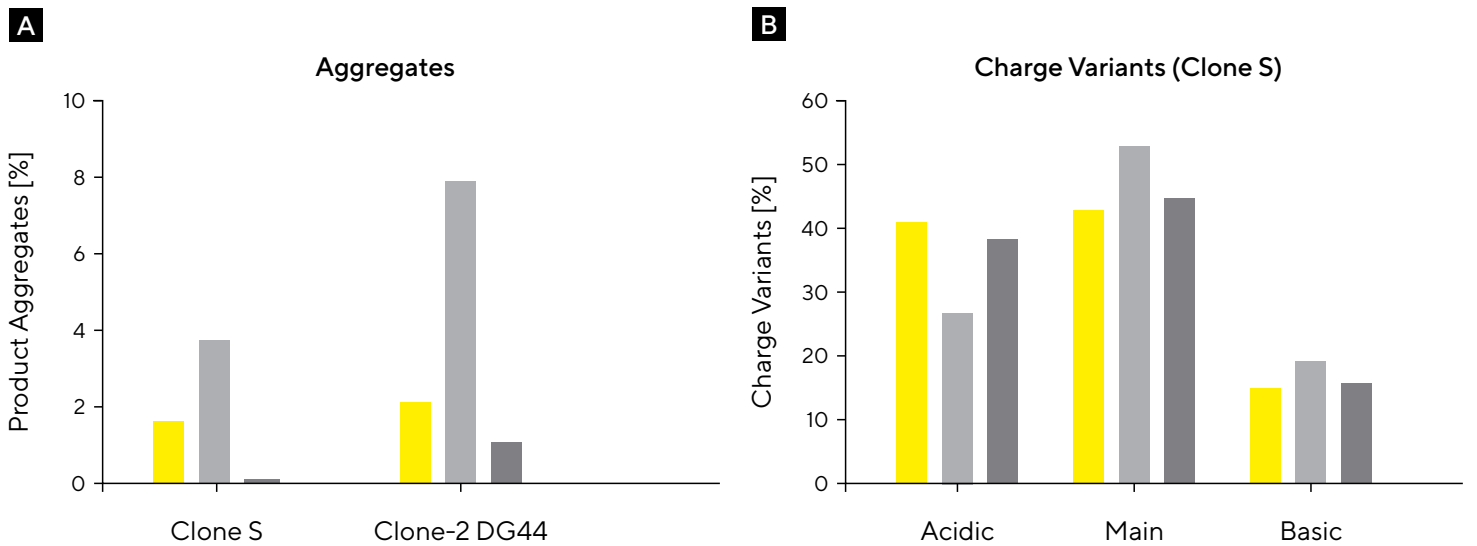
*Clone performance with Media 4 underestimated due to partial culture overfoaming.

Figure 7: CHO-SおよびCHO-DG44を4Cell® SmartCHOまたは市販培地で培養時の生産性



Note. (A) titer and (B) specific productivity.

Figure 8: 4Cell® SmartCHOまたは市販培地で培養時の製品品質特性



Note. (A) aggregates and (B) charge variants (CHO-S cells only).

4Cell® SmartCHO はCHO-K1細胞の培養もサポート

異なる細胞株における4Cell® SmartCHOの性能を評価するため、外部パートナーによりCHO-K1細胞株を用いた盲検試験が実施されました。この実験では、4Cell® SmartCHOを使用サンプルが最も高い力価を記録しました。この力価は、その特定のCHO-K1クローンに対して通常使用されているカスタム培地よりも更に高いものでした (Table 1)。

Table 1: CHO-K1細胞を4Cell® SmartCHOあるいは市販培地でFed-Batch培養した際の力価

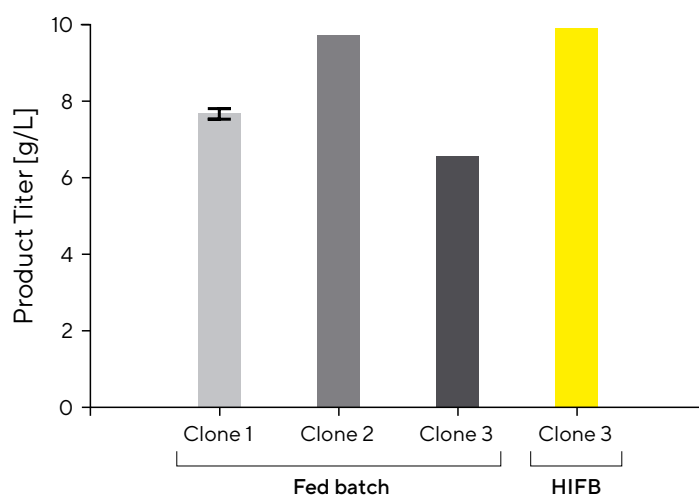
Medium	Titer
4Cell® SmartCHO	4.8 g/L
Medium A	2.1 g/L
Medium B	2.2 g/L
Medium C	3.8 g/L
Medium D	2.2 g/L

Note. Media Benchmarking performed with an external partner in a blind study.

4Cell® SmartCHOはPefusion培養への移行およびSmartCHOpeへの切り替えをサポート

4Cell® SmartCHOは、Process Intensification Strategyの適用もサポートしています。3つのCHO-DG44クローンをフェッドバッチおよびHigh Inoculation Fed-Batch (HIFB) プロセスでテストしました。その結果、4Cell® SmartCHOは、標準的および高イノキュレーションの両方で高い力価をサポートできることがわかりました。このことは、この培地がProcess Intensification Strategyに適していることを示しています。

Figure 9: 3種のCHO-DG44クローンを4Cell® SmartCHOでFed-BatchまたはHIFBプロセスで培養時の力価

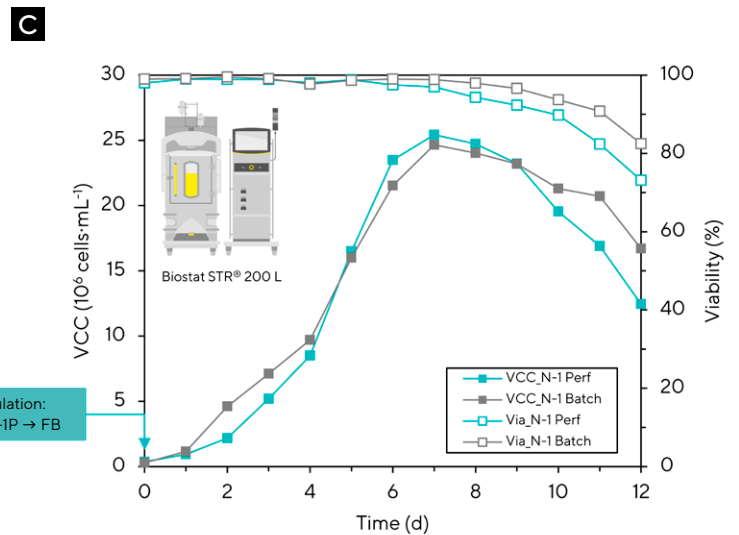
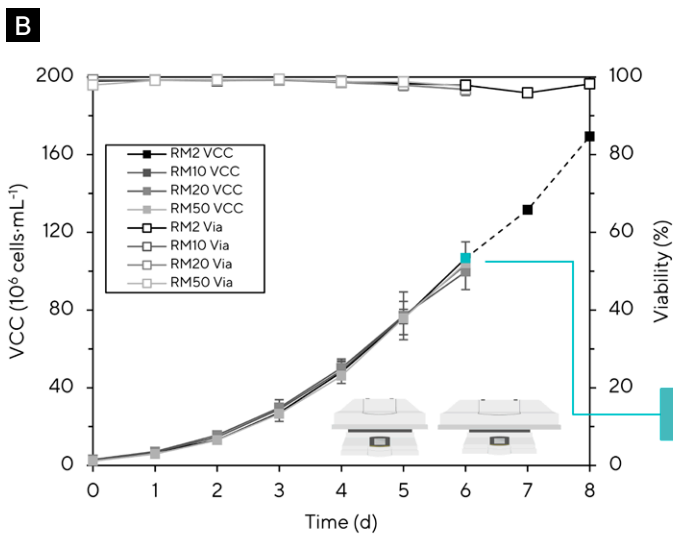
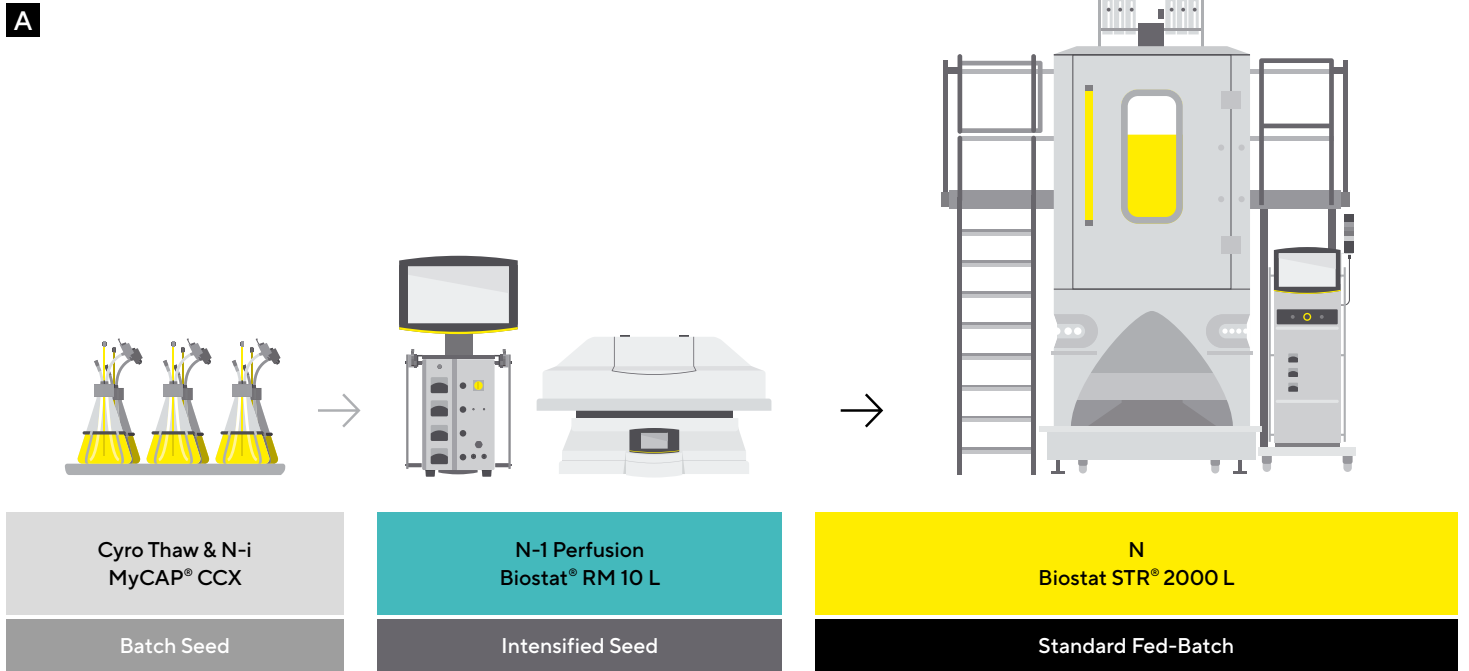


Note. Precision of titer measurements: ±10%.

Perfusion培養のための4Cell® SmartCHOpe

4Cell® SmartCHOの姉妹品である4Cell® SmartCHOpeは、Perfusion用途の培地ソリューションとして提供されています。4Cell® SmartCHOおよびSmartCHOpeは、製品によって容易に交換可能であるため、細胞株の再馴化に煩わされることなく、プロセスフォーマットの変更に柔軟に対応することができます。

Figure 10: N-1プロセスでの4Cell® SmartCHOpeパフォーマンス



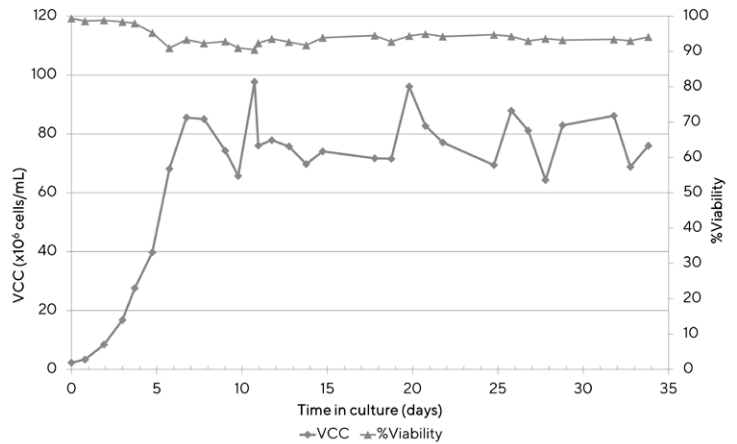
Note. (A) Seed train intensification by N-1 Perfusion, (B) Growth Performance of CHO cells cultured in 4Cell® SmartCHOpe across different seed train scenarios, (C) Growth Performance of CHO cells cultured in 4Cell® SmartCHOpe in a production bioreactor (Biostat® STR 200 L)

4Cell® SmartCHOpeは、N-1 PerfusionによるProcess Intensificationをサポートできます (Figure 10A)。CHO細胞を高密度Perfusion培養 (100 million cells/mL) で5~7日間培養しました (Figure 10B)。この培養液を使用して、標準的なFed-batchモードで200Lのバイオリアクターにインキュレーションしたところ、標準的なシードトレインでの拡張と同等の成長と生存率を示しました (Figure 10C)。

4Cell® SmartCHOpeは、連続Perfusionアプリケーションにも対応しています。Figure 11は、ATF装置を備えた2Lバイオリアクターを使用して、4Cell® SmartCHOpe培地で連続Perfusionにより細胞を培養した実験のデータを示しています。細胞は高い細胞密度、生存率、生産性を維持し、重要なことに、このプロセスは34日間正常に実行されました。

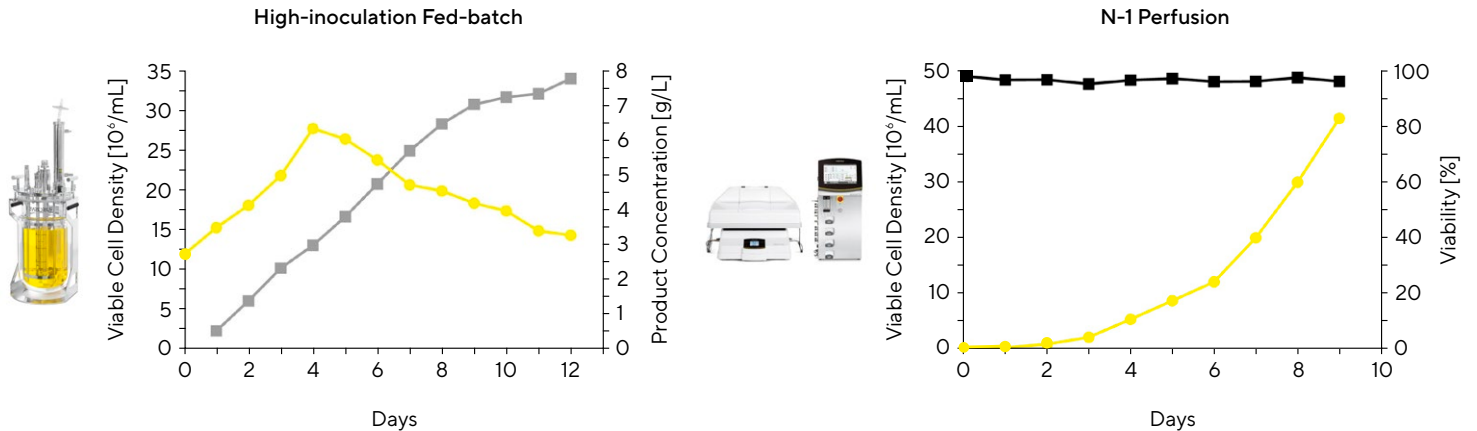
N-1 Perfusionを利用したHigh Inoculation Fed-batchを用いることで、CHOクローンによっては10g/L台まで生産性を高めることができます (Figure 12)。

Figure 11: Perfusionプロセスでの4Cell® SmartCHOpeのパフォーマンス



Note. Viable cell density (VCD) and percentage viability were measured in a 2 L bioreactor with ATF for 34 days.

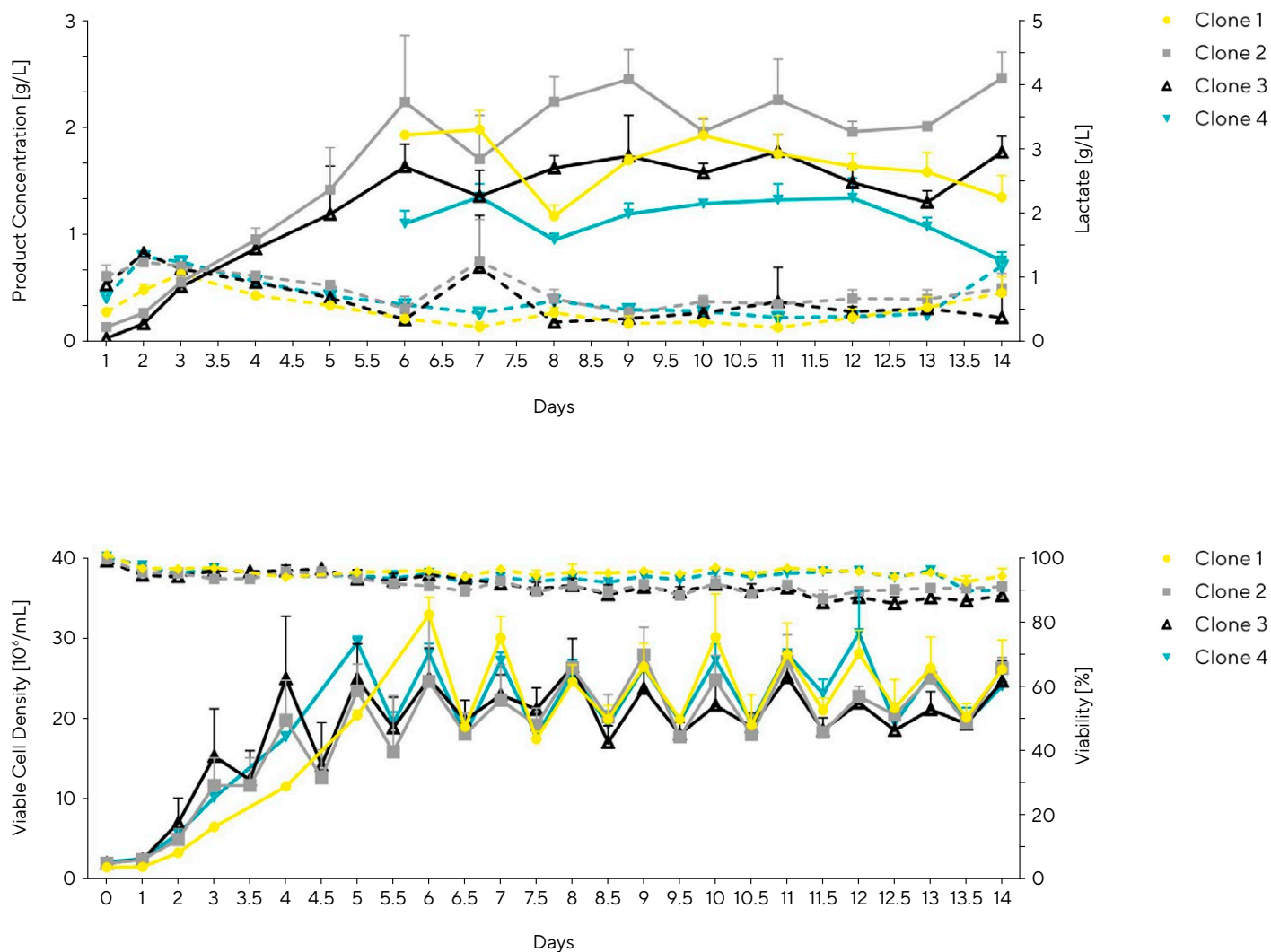
Figure 12: N-1 Perfusionに続くHigh-Inoculation Fed-batch培養での4Cell® SmartCHOpe パフォーマンス



Note. N-1 perfusion: cultivation was performed in the Biostat® RM System with 4Cell® SmartCHOpe at 1 L working volume. High-inoculation fed-batch cultivation was carried out in 5 L UniVessel® with 4Cell® SmartCHOpe as basal medium, and 1.3x 4Cell® SmartCHO feeds added to provide adequate nutrient supply throughout the whole process.

最後に、4Cell® SmartCHOpeはAmbr® 15 perfusion mimicと併用することでクローン評価をサポートし、Perfusionプロセスにおける信頼性の高いクローン選択を可能にします (Figure 13)。

Figure 13: Perfusion Mimic Systemでの4Cell® SmartCHOpe パフォーマンス



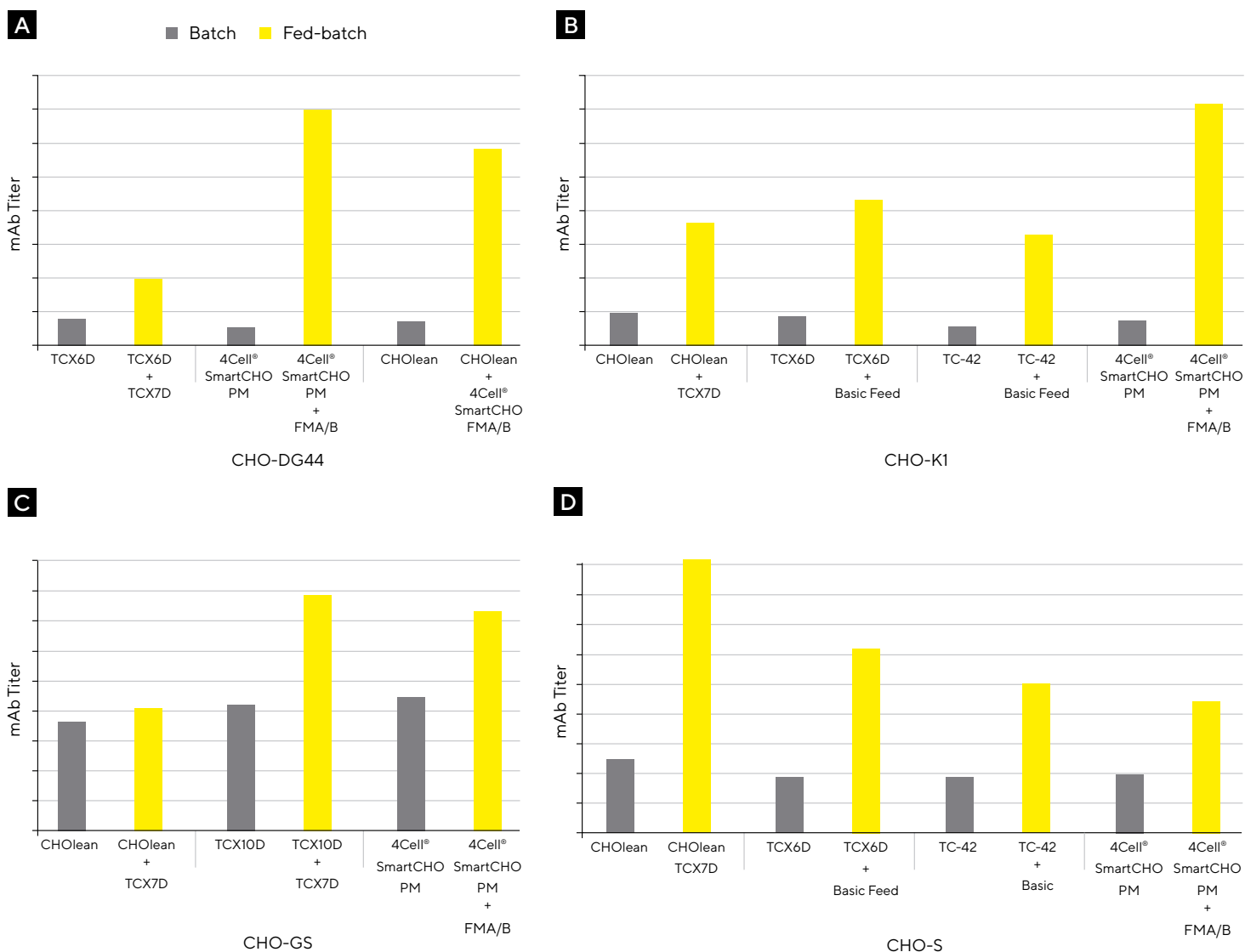
Note. Data from Cellca CHO-DG44 Cell Line Development Service. Four clones cultured in the Ambr® 15.

CHO 培地 & フィード | Fed-batch 培養での比較

4Cell® SmartCHO培地に加え、様々な細胞株、アプリケーション、生産戦略に適した幅広いラインナップを取り揃えています (Figure 1)。ザルトリウスの培地で培養した4つのCHO細胞株によるmAb産生を、Batch式とFed-batch式で比較しました。これらのデータは、培地とフィードがCHO細胞株で異なる力価を生成することを示し、プロセスに適した複数の培地の性能を評価することの重要性を強調しています (Figure 14)。

これらのデータはまた、通常スクリーニングで採用されるBatchプロセスで、所定の培地とフィードの組み合わせによって達成された力価は、通常生産で使用されるFed-batch培養時の力価に外挿することはできないことも示唆しています。したがって、Batch力価に基づく培地をFed-batchスクリーニングの対象から外さないことが重要です。これは後にフィードを添加した場合、力価が劇的に変化する可能性があるからです。

Figure 14: 種々のCHO培地およびフィードの組み合わせでBatchおよびFed-Batch培養を行った際のパフォーマンス



Note. mAb titer produced in (A) CHO-DG44, (B) CHO-K1, (C) CHO-GS (D) CHO-S.

CHOlean | 培地スクリーニングおよび最適化に理想的

CHOleanは、バランスのとれた最小限の成分で構成された組成です。細胞株ごとに適切な配合で成分を補充することが可能なカタログ培地の代表例であり、培地最適化研究の出発点として推奨しています。市販培地と比較した性能はFigure 15に示す通りです。

CHO-TFを用いた一過性トランスフェクション

CHO TF培地は、トランスフェクション複合体に干渉し、細胞への効率的なトランスフェクションを妨げる可能性のある成分を一切含まないため、当社のポートフォリオの中で唯一、一過性の発現をサポートする培地です (Figure 16)。一過性の発現は、通常、Fed-batchではなく、Batch培養で行われます。数日間にわたって発現を長引かせるのは非効率的であり、一般的には短いタイムラインが求められます。

Figure 15: 2種のCHO細胞株をCHOleanまたは市販培地で培養時の相対力価および最大生細胞密度

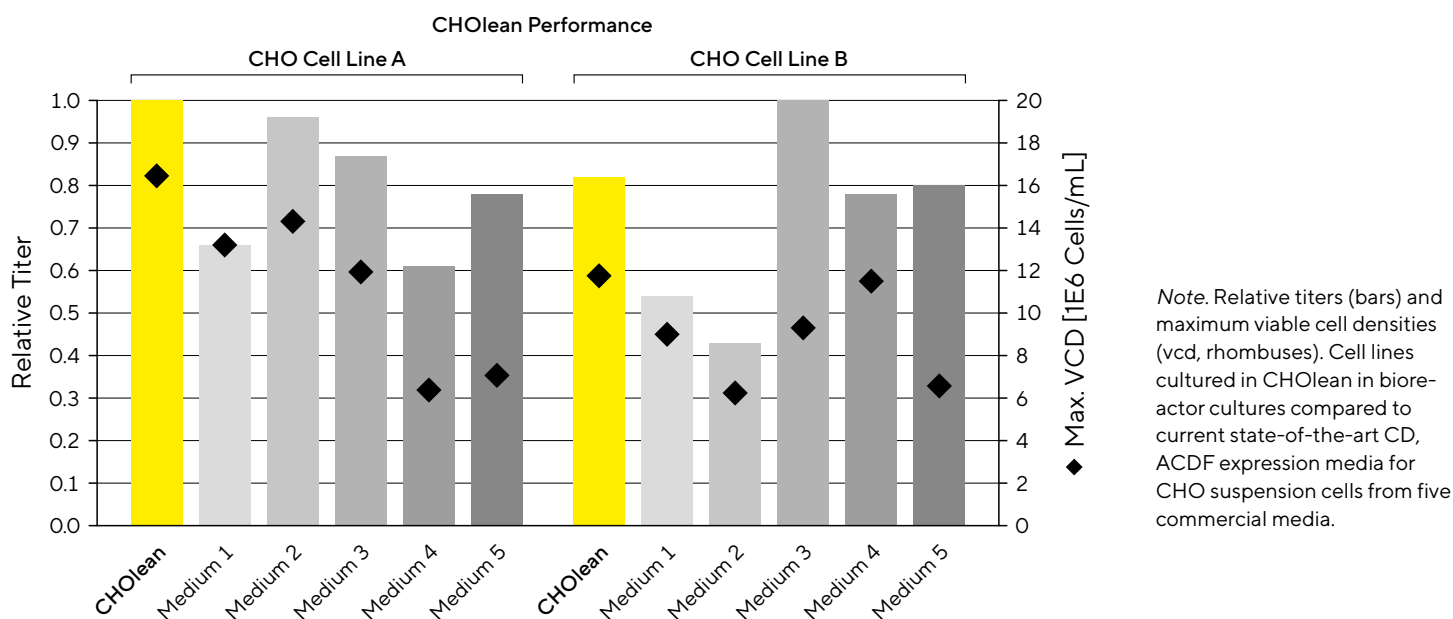
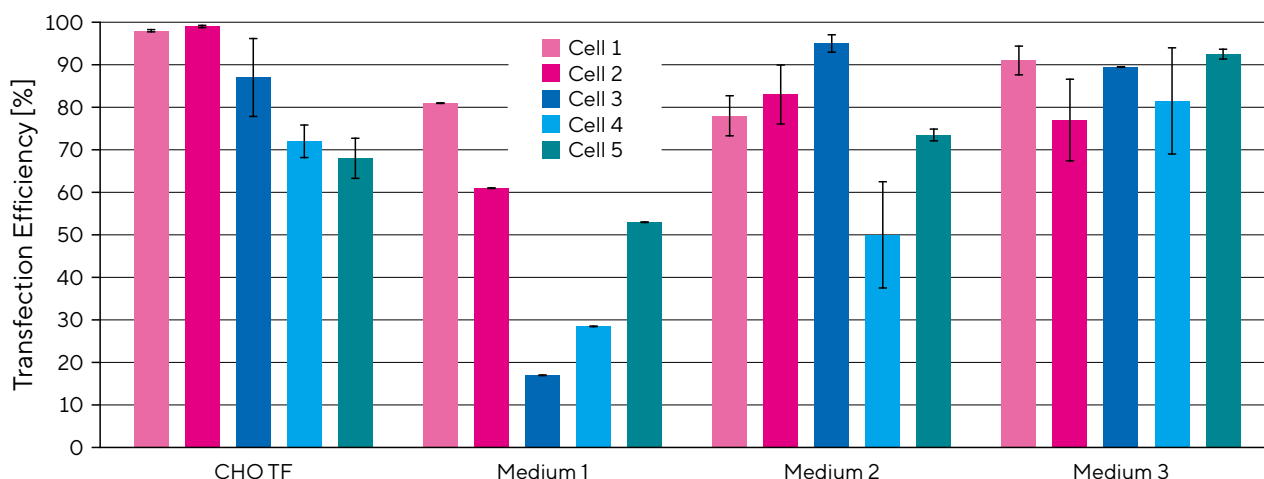


Figure 16: 5種のCHOクローンをCHO TFまたは市販培地で培養時のトランスフェクション効率



Note. Transfection efficiency was measured as GFP expression. Commercial media were current state-of-the-art CD, ADCF expression media for CHO suspension cells. Fresh medium was used at the time of transfection.

Technical Specifications

Medium	Surfactant	Phenol Red	L-Glutamine	Hypoxanthine/ Thymidine	Growth Factors	Glucose	Amino Acids	Vitamins
SmartCHO® (SAM PM)	■	–	–	–	–	■	■	■
SmartCHO® FMB	–	–	–	–	–	–	■	–
SmartCHO® FMA	■	–	–	–	–	■	■	■
TCXD6	■	–	–	■	■	■	■	■
TC-42 w/IGF	■	–	–	–	■	■	■	■
TC-42 w/rInsulin	■	–	–	–	–	■	■	■
TC-42 w/o GF	■	–	–	–	–	■	■	■
TCX10D	■	–	–	■	–	■	■	■
CHOlean	■	–	–	–	–	■	■	■
CHO TF	■	–	–	■	–	■	■	■
TCX7D feed	■	–	–	■	–	60 g/L	■	■
Basic Feed	■	–	–	■	–	20 g/L	■	■

Ordering Information

CHO Media Sample Kits

Product Name	Medium	Format Quantity Package	Order Number
4Cell® SmartCHO Media System	Stock & Adaptation Medium (SAM)	Liquid 1 L Bottle	CFP3FB0200
	Production Medium (PM)	Liquid 2 × 1 L Bottles	
	Feed Medium A (FMA)	Liquid 1 L Bottle	
	Feed Medium B (FMB)	Liquid 125 mL Bottle	
4Cell® SmartCHOpe Media System	Stock & Adaptation Medium (SAM)	Powder 1 × 10 L Container	CQP3FC0100
	Production Medium (PM)	Powder 1 × 50 L Container	
	Feed Medium A (FMA)	Powder 2 × 3 L Container	
	Feed Medium B (FMB)	Powder 1 × 2 L Container	
CHO-GS Media Kit	TCX10D w/o DS	Liquid 1 L Bottle	CFP3FF0200
	TCX7D Feed	Liquid 1 L Bottle	
CHO Media Kit	TCX6D	Liquid 1 L Bottle	CFP3FF0201
	TC-42 w/o IGF	Liquid 1 L Bottle	
	CHOlean	Liquid 1 L Bottle	
	Basic Feed	Liquid 1 L Bottle	

CHO Media Portfolio

Medium	Description	Format Quantity Package	Order Number
CHO TF	Ideal medium for working with transient CHO cells	Liquid 1 L Bottle	886-0001
		Liquid 1 L Bottle (for SILAC*)	888-0001
		Powder 10 L Container	886-0010DPM
		Powder 50 L Container	886-0050DPM
CHOlean	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Lean and robust growth medium for a variety of applications ▪ Lean formulation with minimal components 	Liquid 1 L Bottle	1140-0001
		Liquid 1 L Bottle (for SILAC*)	1141-0001
		Powder 10 L Container	1140-0010DPM
		Powder 50 L Container	1140-0050DPM
		Powder 100 L Container	1140-0100DPM
TC-42	Workhorse formulation especially designed for CHO-DHFR ⁻ cell lines	Liquid 1 L Bottle (w/ IGF)	510-0001
		Liquid 1 L Bottle (w/ Insulin)	509-0001
		Liquid 1 L Bottle	511-0001
		Liquid 1 L Bottle (for SILAC*)	512-0001
		Powder 10 L Container	511-0010DPM
		Powder 50 L Container	511-0050DPM
TCX10D	For long-term high-performance growth with CHO-GS cells	Liquid 1 L Bottle (w/ Dextran Sulfate)	1100-0001
		Liquid 1 L Bottle (w/o Dextran Sulfate)	1150-0001
		Powder 10 L Container (w/o Dextran Sulfate)	1150-0010DPM
		Powder 50 L Container (w/o Dextran Sulfate)	1150-0050DPM
		Powder 100 L Container (w/o Dextran Sulfate)	1150-0100DPM
		Powder 200 L Container (w/o Dextran Sulfate)	1150-0200DPM
		Powder 500 L Container (w/o Dextran Sulfate)	1150-0500DPM
TCX6D	One high-performing medium for any CHO Clone with growth factor LONG [®] R3IGF-I	Liquid 1 L Bottle	1070-0001
		Powder 10 L Container	1070-0010DPM
		Powder 50 L Container	1070-0050DPM
		Powder 100 L Container	1070-0200DPM
		Powder 200 L Container	1070-0250DPM
		Powder 500 L Container	1070-0500DPM
TCX7D Feed Supplement	With 60 g/L D-glucose; esp. for CHO GS cell lines.	Liquid 1 L Bottle	1080-0001
		Powder 2 L Container	1080-0002DPM
		Powder 5 L Container	1080-0005DPM
		Powder 10 L Container	1080-0010DPM
		Powder 25 L Container	1080-0025DPM
		Powder 50 L Container	1080-0050DPM
		Powder 100 L Container	1080-00100DPM
Basic Feed	With 20 g/L D-glucose. Also suitable for hybridoma.	Liquid 1 L Bottle	1092-0001
		Liquid 10 L Bag	1092-0010BAG
		Liquid 20 L Bag	1092-0020BAG
		Liquid 50 L Bag	1092-0050BAG
		Powder 5 L Container	1092-0005DPM
		Powder 10 L Container	1092-0010DPM
		Powder 50 L Container	1092-0050DPM

*SILAC means w/o lysine and arginine ideal for expression of labeled proteins

Medium	Description	Format Quantity Package	Order Number
4Cell® SmartCHO SAM	Allows the cultivation or media adaptation of CHO cells	Liquid 2 × 1 L Bottles	CFP3FB1106
		Powder 10 L Container	CQP3FB1146
		Powder 25 L Container	CQP3FB1147
		Powder 250 L Container	CQP3FB1148
4Cell® SmartCHO PM	Non-selective production medium for batch or for fed batch culture. It can be used for effective cultivation of any CHO cell lines, and helps produce high yield of the active protein.	Liquid 2 × 1 L Bottles	CFP3FB2107
		Powder 9 L Container	CQP3FB2149
		Powder 20 L Container	CQP3FB2150
		Powder 200 L Container	CQP3FB2151
4Cell® SmartCHO FMA	Ideal companion feeds designed to be used together with 4Cell® SmartCHO Production Medium	Liquid 2 × 1 L Bottles	CFP3FB3108
		Powder 3 L Container	CQP3FB3152
4Cell® SmartCHO FMB	Ideal companion feeds designed to be used together with 4Cell® SmartCHO Production Medium	Powder 30 L Container	CQP3FB3153
		Liquid 2 × 125 mL Bottles	CFP3FB4109
		Liquid 2 × 500 mL Bottles	CFP3FB4110
		Powder 2 L Container	CQP3FB4154
		Powder 4 L Container	CQP3FB4155
		Powder 45 L Container	CQP3FB4156
4Cell® SmartCHOpe SAM	Allows the cultivation or media adaptation of CHO cells	Powder 10 L Container	CQP3FC1101
		Powder 25 L Container	CQP3FC1102
		Powder 250 L Container	CQP3FC1103
4Cell® SmartCHOpe PM	Non-selective production medium for perfusion culture.	Powder 20 L Container	CQP3FC2102
		Powder 50 L Container	CQP3FC2101
		Powder 200 L Container	CQP3FC2103
4Cell® SmartCHOpe FMA	Ideal companion feeds designed to be used together with 4Cell® SmartCHOpe Production Medium	Powder 3 L Container	CQP3FC3103
		Powder 30 L Container	CQP3FC3102
4Cell® SmartCHOpe FMB	Ideal companion feeds designed to be used together with 4Cell® SmartCHOpe Production Medium	Powder 120 L Container	CQP3FC3104
		Powder 2 L Container	CQP3FC4104
		Powder 4.5 L Container	CQP3FC4101
		Powder 45 L Container	CQP3FC4102
		Powder 180 L Container	CQP3FC4103

Germany

Sartorius Stedim Biotech GmbH
August-Spindler-Strasse 11
37079 Goettingen
Phone +49 551 308 0

Sartorius Xell GmbH
Waldweg 21
33758 Schloss Holte-Stukenbrock
Phone +49 521 96989 200

USA

Sartorius Stedim North America Inc.
565 Johnson Avenue
Bohemia, NY 11716
Toll-Free +1 800 368 7178

 **For more information, visit**
www.sartorius.com