

**Production de protéines en grande quantité  
sur cellules adhérentes en Corning® HYPERFlask™  
Cell Culture Vessel**

CORNING



*Spillane Kerry et Upton Todd, Ph.D., Corning Life Sciences*

### Résumé

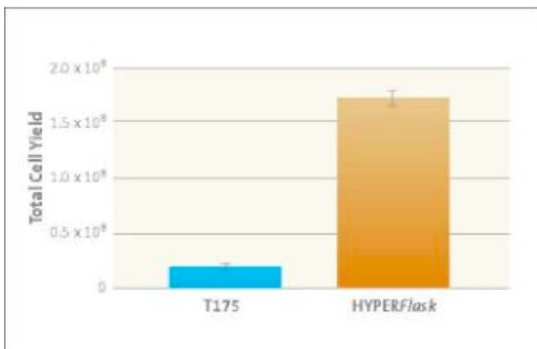
La production en grande quantité de protéines de haute qualité et d'autres produits biologiques est essentielle à la recherche fondamentale ainsi qu'à la drug discovery. Le flacon de culture cellulaire Corning HYPER Flask à haut rendement a été introduit pour répondre à cette demande. Présentant les mêmes dimensions qu'un flacon T175 conventionnel, mais avec une surface de culture environ dix fois supérieure par ses dix couches perméables au gaz, l'HYPERFlask™ Cell Culture Vessel est idéal pour maximiser le rendement des cellules et la production de protéines tout en minimisant le coût. Cette étude démontre que les cellules adhérentes d'ovaire de hamster chinois (CHO) 5/9, lignée cellulaire alpha, atteignent des densités égales dans l'HYPERFlask™ Cell Culture Vessel comparativement à un flacon T175 classique, avec un rendement total de cellules neuf fois plus élevé. Fait marquant: les résultats ont montré une plus grande production de protéines par cellule dans l'HYPERFlask™ Cell Culture Vessel, ce qui entraîne une augmentation de plus de dix fois du rendement en protéines totales. Cela suggère une meilleure performance des cellules cultivées dans l'HYPERFlask™ Cell Culture Vessel en comparaison des flacons conventionnels.

### Matériel et méthodes

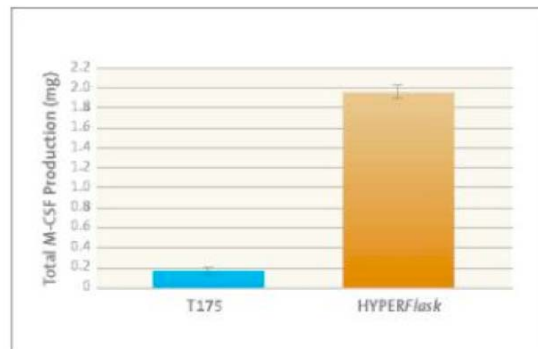
Des cellules 5/9 alpha 318 CHO (ATCC réf. 10154 CRL™) ont étéensemencées dans des flacons T175 (Corning réf. 431306) et des HYPERFlask™ Cell Culture Vessel (Corning réf. 10010) à une densité de  $5 \times 10^4$  cellules/ml dans 0.29 mL/cm<sup>2</sup> de milieu IMDM complété avec 10% de sérum veau foetal. Les flacons ont été placés dans un incubateur humide à 37°C et 5% de CO<sub>2</sub> pendant 96 heures. À la fin des 96 heures de croissance, un millilitre d'échantillon a été prélevé dans chaque flacon et centrifugé à 270 RCF pendant 7 minutes. Le surnageant a été recueilli et utilisé pour déterminer la production de MCSF (Macrophage Colony Stimulating Factor) en utilisant le kit ELISA R & D Systems Quantikine (réf. DMC00). Chaque flacon a ensuite été récolté et les cellules viables ont été comptées au bleu trypan. L'expérience a été répétée quatre fois, chaque dosage étant réalisé en trois exemplaires.

## Résultats

La lignée cellulaire commerciale 5/9m alpha 318 CHO qui exprime de manière constitutive le MCSF, a été choisie pour démontrer la croissance des cellules adhérentes et la production de protéines dans les *HYPERFlask™* Cell Culture Vessel par rapport au flacon T175 standard. Les résultats après 96 heures de culture, ont montré un rendement total de cellules neuf fois plus élevé dans l'*HYPERFlask™* Cell Culture Vessel par rapport au flacon T175 (figure 1), avec des densités cellulaires statistiquement équivalentes. Comme autre mesure de la performance de l'*HYPERFlask™* Cell Culture Vessel nous avons mesuré la production de MCSF constitutive. Il est intéressant de noter que le rendement en MCSF est 11 fois plus élevé en *HYPERFlask™* Cell Culture Vessel en comparaison de celui observé en flacon T175 (Figure 2). La détermination du rendement en MCSF par cellule montre que la production en *HYPERFlask™* Cell Culture Vessel est 1,24 fois supérieure à celle observée en T175 (Figure 3). Ces résultats sont semblables aux résultats récemment montrés pour la production d'anticorps à partir d'hybridomes en suspension ([www.corning.com/lifesciences/HYPERFlask\\_suspension](http://www.corning.com/lifesciences/HYPERFlask_suspension)). Bien que le mécanisme exact de ce phénomène soit inconnu, ces résultats suggèrent un renforcement de la capacité cellulaire pour la production de protéines en l'*HYPERFlask™* Cell Culture Vessel. Cette augmentation de la production peut s'expliquer par une amélioration des transferts d'oxygène au niveau des cellules sur la couche perméable au gaz.



**Figure 1.** Rendement total en cellules 5/9 alpha après 96 heures en T175 et en *HYPERFlask™* Cell Culture Vessel.



**Figure 2.** Production totale en MCSF après 96 heures en T175 et en *HYPERFlask™* Cell Culture Vessel.



**Figure 3.** Production moyenne de MCSF par cellule après 96 heures en T175 et en *HYPERFlask™* Cell Culture Vessel.

## Conclusions

- Le rendement total en cellules adhérentes est neuf fois plus élevé en *HYPERFlask™* Cell Culture Vessel par rapport au flacon T175 classique.
- La production de MCSF est 11 fois plus élevée en *HYPERFlask™* Cell Culture Vessel par rapport au flacon T175 classique.
- La production moyenne de MCSF par cellule 5/9 Alpha CHO est 1,24 fois supérieure dans les cultures en *HYPERFlask™* Cell Culture Vessel, indiquant une performance cellulaire améliorée.