



MetaCell® CHO-320 说明书 (P1015)		
文件编号Document Number	版本Revision Code	部门Owner
NPD2024003-UG	D00	CD

批准

	姓 名	部 门	签字/日期
编 制	肖西西	商 务 部	肖西西 2024.01.10
审 核	吕 言	研 发 部	吕言 2024.01.17
审 核	李小明	商 务 部	李小明 2024.01.11
审 核	李长飞	生 产 部	李长飞 2024.01.11
审 核	王 磊	运 营 中 心	王磊 2024.01.19
批 准	徐红梅	质量管理部	徐红梅 2024.01.22
生效日期	2024.01.29	复 审 日 期	2027.01.28
分发部门(代码)	☒ 生产部 (01) ☐ 质量部 (04) ☐ 采购 (07) ☒ 仓库 (02) ☐ 综合管理部 (05) ☐ 财务部 (08) ☐ 工程 (03) ☒ 商务部 (06) ☒ 研发部 (09)		

变更记录

版次	生效日期	修订原因	修订内容阐述
V 00	2024.01.19	新增文件	New

MetaCell® CHO-320

化学成分确定培养基

产品简介

MetaCell® CHO-320是为高密度瞬时转染CHO细胞而设计的化学成分确定的培养基，不含血清、水解物、蛋白质以及任何动物源成分，可支持CHO细胞的小规模和大规模瞬时化学转染，兼容各种商业化阳离子转染试剂，推荐与MetaCell® Titer Enhancer、MetaCell® CHO TransFeed搭配使用。转染试剂推荐PolyPlus FectoPRO® 或PEI 40K。MetaCell® CHO-320适用于科研和基于细胞培养的大规模生物制品的生产，但不可直接用于人体或作为药物用。MetaCell® CHO-320已含有6mM谷氨酰胺衍生物。

产品名称	形态	产品编码	包装规格	储存条件	有效期	推荐使用范围
MetaCell® CHO-320	干粉	P1015-X010	10L	2-8℃， 密闭、避光	12个月 (暂定)	CHO细胞瞬时 转染
		P1015-X100	100L			

培养条件

培养基：MetaCell® CHO-320
细胞系：ExpiCHO-S、CHO-K1
培养类型：悬浮
培养参数设置：

摇瓶体积	125mL	250mL	500mL	1L	3L	5L
培养体积（mL）	30-35	60-70	120-140	240-280	600-1000	1500-2000
摇床转速	125±5 rpm（振幅 19mm） 120±5 rpm（振幅 25mm） 95±5 rpm（振幅 50mm）				105±5 rpm 95±5 rpm 80±5 rpm	
摇瓶类型	PETG 或者 PC 材质，透气，无挡板					
培养环境	37±0.5℃，8%CO ₂ ，湿度≥80%，确保适当的气体交换并尽量避光培养					

MetaCell® CHO-320配液方法 (以1kg为例)

- 在干净的容器中添加880-900g的超纯水或注射用水（水温20-30℃）。
- 称取21.364-22.227g培养基干粉缓慢倒入培养基容器，搅拌5-10分钟。培养基每升标示量：21.792g/L。
- 添加碳酸氢钠2.096-2.104g至培养基溶液中，搅拌至完全溶解。碳酸氢钠每升标示量：2.100g/L。
- 添加5mol/L氢氧化钠溶液或5mol/L盐酸溶液调节pH至所需范围内（建议范围为：6.95-7.05）。
- 补水定容至溶液净重为998-1002g，搅拌5-10分钟。如pH出现明显变化，继续用5mol/L氢氧化钠溶液或5mol/L盐酸溶液调节pH至6.95-7.05范围内。

6. 取样检测渗透压，渗透压范围为 $290 \pm 20 \text{ mOsmol/kg}$ 。
7. 使用 $0.22 \mu\text{m}$ 除菌级滤膜除菌过滤至合适容器， $2-8^\circ\text{C}$ 避光保存，并于12个月内使用完毕。

细胞复苏

8. 干冰运输的细胞应放置在液氮环境下3-7天后再进行细胞复苏。
9. 提前取39mL MetaCell[®] CHO-320于125mL摇瓶中 37°C 预热。
10. 从液氮罐中取出一支冻存细胞，置 37°C 水浴锅中，水浴1-2分钟，注意观察冻存管里细胞冰块状态。
11. 15mL离心管里添加9mL提前预热的MetaCell[®] CHO-320，将复融后的细胞转移至其中混匀。
12. 1000rpm离心4分钟后，弃上清，使用已预热的MetaCell[®] CHO-320重悬细胞，然后全部转移至125mL摇瓶中，确定最终培养体积为30mL，混匀后取样测定细胞的密度和活率，细胞密度应该在 $0.3-0.4 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 。

注：通常细胞的活率会在解冻后24h内略有下降，培养3-4天后，会逐渐恢复到90%以上。

13. 建议的摇床培养参数 37°C ，8% CO_2 ， $95 \pm 5 \text{ rpm}$ （振幅50mm）。
14. 培养3-4天后，当细胞密度 $\geq 3.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 且活率 $\geq 90\%$ 时传代。

注：若细胞复苏2-3代后，细胞生长状态正常，活率 $\geq 95\%$ ，应尽快安排冻存。

细胞传代

1. 使用在 37°C 条件下复温20-30min，或在室温条件下复温1 h的培养基进行传代。
2. 无菌转移所需的种子液至摇瓶中，并添加适量的已预热培养基，参考培养条件设置摇床参数，每2-4天用新鲜培养基进行传代培养。
3. 3天传代接种密度： $0.4-0.5 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 。
4. 4天传代接种密度： $0.2-0.3 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 。
5. 最终细胞密度达到 $4.0-6.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ ，细胞活率 $\geq 95\%$ 即可传代。
6. 为获得最佳实验结果，细胞解冻复苏后至少传代三次，待细胞生长状态稳定或在待筛选培养基中进行2周左右的适应性培养后，方可进行转染实验。

细胞冻存

1. 准备好足量的处于对数生长早期且细胞活率 $\geq 95\%$ 的细胞作为冻存用细胞。
2. 最终的细胞冻存密度应控制在 $10.0-15.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 。
3. 准备冻存液（90% MetaCell[®] CHO-320 + 10% DMSO）， $2-8^\circ\text{C}$ 下预冷30分钟备用。
4. 取适量细胞悬液，1000rpm离心4分钟，弃上清，用 $2-8^\circ\text{C}$ 预冷的冻存液重悬。按照冻存规格，立即将细胞悬液分装至冻存管中。
6. 通过程序降温或人工控制等方式，将细胞逐步降温至 -80°C 冷冻状态（降温速率为 $1^\circ\text{C}/\text{分钟}$ ）。

7. 24小时后将完成冷冻的细胞转移至液氮储罐气相中（储存温度范围：-200℃至-125℃）储藏。

注：在液氮中储存24小时后，应抽样测试冻存管中复苏后的细胞活率。

细胞驯化

多数情况下，无血清培养的CHO细胞可以直接适应MetaCell[®] CHO-320，如果直接更换培养基（直接驯化）失败，则推荐采用梯度替换（间接驯化）的方法使CHO细胞适应MetaCell[®] CHO-320。

注：用于驯化的CHO细胞需要处于对数生长期的早期，且细胞活率≥95%。

• 直接驯化法

1. 对于可以直接驯化的细胞，当细胞活率≥95%且处于对数生长早期时，可尝试直接从无血清培养基接种到MetaCell[®] CHO-320中。
2. 以 $0.2-0.5 \times 10^6$ cells/mL的接种密度将CHO细胞接种至新鲜的MetaCell[®] CHO-320中（参看细胞传代步骤）。
3. 培养3-4天后，检测细胞密度以及活率，此时细胞活率应≥95%，如果活率较低，则需要更换驯化的细胞或采用间接驯化法。
4. 继续传代3-4次，当细胞活率≥95%时，可认为细胞已驯化完成，后续可进行正常的细胞传代、转染和冻存。

• 间接驯化法

1. 用原培养基调整待驯化细胞的密度至 $0.3-0.6 \times 10^6$ cells/mL，加入25%体积的MetaCell[®] CHO-320，使得最终细胞密度为 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL。
2. 培养3-4天后传代，传代的起始密度仍为 $0.2-0.5 \times 10^6$ cells/mL，
 - (1) 如细胞生长状态良好，且活率≥90%，则传代时调整MetaCell[®] CHO-320与原培养基的比例为50:50；
 - (2) 如细胞生长缓慢，可对细胞进行离心换液，离心条件为1000rpm，4分钟。此时的混合培养基依旧为MetaCell[®] CHO-320与原培养基以25:75比例混合。
3. 重复步骤2并逐渐增加MetaCell[®] CHO-320所占的比例（50:50，75:25），直到使用100%的MetaCell[®] CHO-320进行细胞培养。
4. 继续传代3-4次，当细胞密度在接种的3-4天内达到 $4.0-6.0 \times 10^6$ cells/mL，且细胞活率≥95%时，可认为驯化完成，后续可进行正常的细胞传代、转染和冻存。

细胞转染

1. 在细胞转染测试开始前，细胞应完全适应MetaCell[®] CHO-320，并且以常用的接种密度传代培养。
2. 转染前一天以 3.5×10^6 cells/mL的活细胞密度接种活化，转染当天细胞密度达到 $6.0-8.0 \times 10^6$ cells/mL，用预热过的新鲜培养基稀释到 6.0×10^6 cells/mL，细胞活率≥95%即可转染。
3. 具体转染操作请参考思鹏生物ExpiCHO转染指南。



产品订购信息:

产品	类别	形态	目录号	包装规格
MetaCell [®] CHO-320	培养基	干粉	P1015-X010	10L
			P1015-X100	100L
MetaCell [®] CHO-320	培养基	液体	L1015-0500	500mL
			L1015-1000	1000mL
MetaCell [®] CHO TransFeed	补料	液体	L1008-0100	100mL
			L1008-1000	1000mL
MetaCell [®] Titer Enhancer	添加剂	液体	L1009-0010	10mL
			L1009-0100	100mL
MetaCell [®] Hi4-Transient Kit	CHO瞬时转染套盒	/	L1016	1 kit



www.cellplusbio.com

地址：江苏省苏州市高新区大同路20号A3幢
电话：0512-67332699
邮箱：Service@cellplusbio.com