

# MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5

## 无血清培养基

### 产品简介

MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5是一款专为High Five细胞 (BTI-TN-5B1-4)开发的通用无血清全悬浮培养基，应用于使用杆状病毒表达载体系统 (BEVS) 进行的重组蛋白表达。

MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5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使用。

MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5已含有18mM谷氨酰胺。

| 产品名称                                 | 产品编码       | 包装规格   | 储存条件           | 有效期  | 推荐使用范围                 |
|--------------------------------------|------------|--------|----------------|------|------------------------|
| MetaCell <sup>®</sup> IncreaSect Hi5 | L3500-1000 | 1000mL | 2-8℃，<br>密闭、避光 | 12个月 | 用于支持High Five细胞无血清悬浮培养 |

### 推荐培养条件

培养基：MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5

细胞系：High Five(Hi5)

培养类型：悬浮

培养参数设置：

|           |                                                                        |       |         |
|-----------|------------------------------------------------------------------------|-------|---------|
| 摇瓶体积      | 125mL                                                                  | 250mL | 500mL   |
| 培养体积 (mL) | 25-35                                                                  | 60-70 | 120-140 |
| 摇床转速      | 125 ± 5 rpm (振幅 19mm)<br>120 ± 5 rpm (振幅 25mm)<br>95 ± 5 rpm (振幅 50mm) |       |         |
| 摇瓶类型      | PETG 或者 PC 材质，透气，无挡板                                                   |       |         |
| 培养环境      | 27 ± 0.5 °C，0% CO <sub>2</sub> ，无需额外增加湿度，确保适当的气体交换，尽量避光培养              |       |         |

### 细胞复苏

- 干冰运输的细胞应立刻复苏或放置在液氮环境下3-7天后再进行细胞复苏。
- 从液氮罐中取出一支冻存细胞，置于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。
- 先预热29mL的MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5培养基30分钟以上，用以备用。加入细胞液，轻轻吹打混匀，然后全部转移至125mL摇瓶中，最终培养体积为30mL。
- 建议的摇床培养参数为27°C，0% CO<sub>2</sub>，95 ± 5rpm（振幅50mm）。
- 培养2-3天，待细胞状态进入对数生长早期，细胞密度为4.0-6.0×10<sup>6</sup> cells/mL，且细胞活率≥85%时，将Hi5细胞以0.5-0.7×10<sup>6</sup> cells/mL传代培养，推荐至少连续传代三次后进行后续实验。

注：若细胞复苏3代后，细胞生长状态正常，活率 $\geq 90\%$ ，应尽快安排冻存。

### 细胞传代

1. 根据细胞计数结果，将Hi5细胞按照 $0.5-0.7 \times 10^6$  cells/mL接种，培养3天传代，细胞至少传代3次后再进行后续实验。
2. 细胞悬浮培养稳定后，应尽快冻存。一般情况下H5细胞按照 $0.5-0.7 \times 10^6$  cells/mL接种，D3活细胞密度可达到 $4.0-6.0 \times 10^6$  cells/mL，活率 $\geq 90\%$ 。

### 细胞冻存

1. 准备好足量的处于对数生长早期且活率 $\geq 90\%$ 细胞作为冻存用细胞。
2. 最终的细胞冻存密度应控制在： $25.0-30.0 \times 10^6$  cells/mL。
3. 配制冻存液：92.5%条件培养基+7.5% DMSO，2-8℃下预冷30分钟备用。
4. 取适量细胞悬液， $200 \times g$ 离心5分钟，弃上清，用冻存液重悬后，按照冻存规格，立即将细胞悬液分装至冻存管中，每支冻存管中分装1mL。
5. 按照标准程序（每分钟降低1℃），在自动或手动控制速率的冷冻设备中实现冷冻保存。
6. 将冷冻细胞转移至液氮（气相）（储存温度范围：-200℃至-125℃）中储存。

### 细胞驯化

大多数情况下，无血清培养的Hi5细胞可以直接适应MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5，如果有需要，亦可通过逐渐驯化使其适应于MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5中生长。

注：用于驯化的Hi5细胞需要处于对数生长期的早期，且活率 $\geq 90\%$ 。

#### ● 直接驯化法

1. 对于可以直接驯化的细胞，当细胞活率 $\geq 90\%$ 且处于对数生长早期时，可尝试直接接种到MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5中。
2. 最初培养阶段，Hi5细胞按照初始密度 $0.5-0.7 \times 10^6$  cells/mL接种，培养3天后，细胞活率应 $\geq 90\%$ ，如果活率较低，则需要采用间接驯化法。
3. 传代3-5次，细胞状态及生长正常后，可以开始后续实验。

#### ● 间接驯化法

1. 将原培养基和MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5按75:25比例混合，接种密度为 $0.5-0.7 \times 10^6$  cells/mL。
2. 培养3-4天后，细胞密度达到 $4.0-6.0 \times 10^6$  cells/mL传代，
  - (1) 如细胞生长状态良好，且活率 $\geq 90\%$ ，则传代时调整原培养基与MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5 的比例为50:50。
  - (2) 如有细胞生长缓慢、细胞结团严重等不稳定状态，可对细胞进行离心换液，离心条件为 $200 \times g$ 离心5分钟。此时的混合培养基依旧为原培养基和MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5以75:25比例混合。
3. 重复步骤2并逐渐增加MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5 所占的比例（推荐比例 50:50, 25:75），直到使用100%的 MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5进行细胞培养。
4. 在100%的MetaCell<sup>®</sup> IncreaSect Hi5中继续培养2-3代，传代3天后，当细胞活率 $\geq 90\%$ ，细胞密度达到 $4.0-6.0 \times 10^6$  cells/mL，方可认为驯化完成。连续稳定传代3代以上，方可进行后续实验。

-----最初修订日期：2025.02-----最新修订日期：2025.04-----