

MetaCell[®] CHO-100

化学成分确定培养基

产品简介

MetaCell[®] CHO-100 培养基是为批培养 (Batch) 和流加培养 (Feed-batch) 中国仓鼠卵巢细胞 (CHO) 而设计的高性能、高产量细胞培养基。该培养基化学成分确定 (chemically defined)，不含任何动物来源成分，无水解物、无蛋白。MetaCell[®] CHO-100 不含酚红和谷氨酰胺，含有6g/L葡萄糖，可用于GS筛选系统的CHO-K1、CHO-K1SV等细胞株的培养。

MetaCell[®] CHO-100 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。

产品名称	形态	产品编码	包装规格	储存条件	有效期	推荐适用范围
MetaCell [®] CHO-100	干粉	P1003-X010	10L	2-8°C, 密闭、避光	12个月 (暂定)	适用于CHOK1, CHO-K1SV等细 胞系的高密度培 养和稳定表达
		P1003-X100	100L			
		P1003-X500	500L			

培养条件

培养基: MetaCell[®] CHO-100

培养类型: 悬浮

细胞系: CHO-K1、CHO-K1SV

培养参数设置:

摇瓶体积	125mL	250mL	500mL	1L
培养体积 (mL)	25-35	60-80	120-160	240-300
摇床转速	150 ± 5 rpm (振幅 19mm) 145 ± 5 rpm (振幅 25mm) 120 ± 5 rpm (振幅 50mm)			
摇瓶类型	PETG 或者 PC 材质, 透气, 无挡板			
培养环境	37 ± 0.5 °C, 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-100配液方法 (以1kg为例)

1. 在干净的容器中添加900-920g的超纯水或注射用水 (水温20-30°C)。
2. 称取23.178-23.410g培养基干粉缓慢倒入培养基容器, 搅拌20分钟以上。培养基每升标示量: 23.294g/L。
3. 添加5mol/L氢氧化钠溶液5.5mL, 搅拌至pH稳定后, 使用5mol/L氢氧化钠溶液调节pH至8.40±0.10, 继续搅拌30分钟以上至无悬浮物且溶液澄清。

4. 添加碳酸氢钠2.298-2.322g至培养基溶液中，继续搅拌10分钟以上至完全溶解。碳酸氢钠每升标示量：2.310g/L。
5. 添加5mol/L盐酸溶液调节pH至6.90-7.10。
6. 补水定容至溶液净重为995-1005g，继续搅拌5分钟以上。
7. 使用0.22 μ m除菌级滤膜除菌过滤至合适容器，2-8 $^{\circ}$ C密闭、避光保存。

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-100于125mL摇瓶中37 $^{\circ}$ C预热。
10. 从液氮罐中取出一支冻存细胞，置于37 $^{\circ}$ C恒温水浴锅中，水浴1-2分钟，注意观察冻存管中细胞冰块状态。
11. 15mL离心管中添加9mL预热的MetaCell[®] CHO-100，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-100重悬细胞，然后全部细胞转移至125mL摇瓶中，最终培养体积为30mL。混匀后取样测定细胞密度和活率，细胞密度范围应在0.2-0.3 $\times 10^6$ cells/mL。

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

13. 培养3-4天，待细胞状态进入对数生长中期后，以0.4-0.6 $\times 10^6$ cells/mL细胞密度进行传代培养。

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. 提前将MetaCell[®] CHO-100放入37 $^{\circ}$ C条件下预热20-30分钟。
2. 当活细胞密度达到3.0-4.0 $\times 10^6$ cells/mL且活率 $\geq 95\%$ （3-4天）时，即可进行传代培养。
3. 推荐细胞接种密度为：0.4-0.6 $\times 10^6$ cells/mL。
4. 无菌转移所需的种子液至摇瓶中，并添加适量的已预热MetaCell[®] CHO-100，参考培养条件设置摇床参数，每3-4天用新鲜MetaCell[®] CHO-100按上述步骤进行传代培养。
5. 细胞解冻复苏后至少传代三次以上，待细胞生长状态稳定后方可进行后续实验。

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 $\times 10^6$ cells/mL。
3. 提前配置冻存液（90% MetaCell[®] CHO-100 + 10% DMSO），2-8 $^{\circ}$ C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 $^{\circ}$ C预冷的冻存液重悬后，按照冻存规格，立即将细胞悬液分装至冻存管中。
5. 通过程序降温或人工控制等方式将细胞逐步降温至 - 80 $^{\circ}$ C冷冻状态（降温速率为1 $^{\circ}$ C/分钟）。
6. 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 $^{\circ}$ C至-125 $^{\circ}$ C）储藏。
7. 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

大多数情况下，无血清培养的CHO细胞可以直接适应MetaCell[®] CHO-100 培养基，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-100。

注：用于驯化的CHO细胞需处于对数生长期的早期，且活率≥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-100中。
2. 将细胞以 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL密度从原始培养液中直接转移接种到100% MetaCell[®] CHO-100中（转移过程无需完全去除原培养基）。
3. 每3-4天进行传代培养，连续传代至少3-5次，如细胞增殖速率恢复到适应前水平且细胞活率高于95%，可认为细胞已经完全适应了MetaCell[®] CHO-100，后续可进行正常的细胞传代、转染和冻存。
4. 如直接适应方法无效，请尝试间接驯化方法。

• 间接驯化法

1. 将MetaCell[®] CHO-100和原培养基按25:75比例混合，接种密度为 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL。
2. 培养3-4天后传代，
 - (1) 如细胞生长状态良好，且活率≥90%，则传代时调整MetaCell[®] CHO-100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-100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-100所占的比例（50:50，75:25），直到使用100%的MetaCell[®] CHO-100进行细胞培养。
4. 在100% MetaCell[®] CHO-100中继续培养2-3代，当细胞密度在接种的3-4天内达到 $3.0-4.0 \times 10^6$ 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和冻存。

批培养测试

批培养测试开始前，细胞应完全适应MetaCell[®] CHO-100，并且以常用的接种密度传代培养。在整个培养过程中，应密切注意细胞活率、活细胞密度和蛋白的产量。

步骤如下：

1. 第0天，细胞接种密度 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL，125mL摇瓶装30mL培养基（参照培养参数设置）。
2. 每隔一天取样作细胞计数和培养基生化检测，培养后期留样进行表达量检测。
3. 批培养过程中，应保持葡萄糖含量不低于2g/L，如果葡萄糖含量低于2g/L，补加至4g/L。（注意：本产品含6g/L葡萄糖）
4. 当细胞活率低于90%或累计培养10天，批培养结束。

相关产品订购信息:

产品	类别	形态	目录号	包装规格
MetaCell® CHO-100	培养基	液体	L1003-0500	500mL
			L1003-1000	1000mL
		干粉	P1003-X010	10L
			P1003-X100	100L
			P1003-X500	500L
MetaCell® Feed-500A	补料	液体	L1011-0100	100mL
			L1011-0500	500mL
		干粉	P1011-X001	1L
			P1011-X020	20L
			P1011-X100	100L
MetaCell® Feed-500B	补料	液体	L1012-0100	100mL
			L1012-1000	1000mL
		干粉	P1012-X001	1L
			P1012-X010	10L
			P1012-X025	25L
MetaCell® Feed-500A High Glucose	补料	液体	L1017-0100	100mL
			L1017-0500	500mL
			L1017-1000	1000mL
		干粉	P1017-X001	1L
			P1017-X010	10L
			P1017-X050	50L

-----最初修订日期: 2024.08-----

-----最新修订日期: 2024.10-----