

MetaCell® CHO-320 Plus

化学成分确定培养基

产品简介

MetaCell® CHO-320 Plus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。本产品已含有6mM谷氨酰胺衍生物。

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® CHO-320 Plus	L1018-0500	500mL	2-8°C, 密闭、避光	12个月 (暂定)	CHO细胞瞬时转染
	L1018-1000	1000mL			

本产品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。

培养条件

培养基：MetaCell® CHO-320 Plus

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）				105±5 rpm	
	120±5 rpm（振幅 25mm）				95±5 rpm	
	95±5 rpm（振幅 50mm）				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 °C，8%CO ₂ ，湿度≥80%，确保适当的气体交换并尽量避光培养					

细胞复苏

- 取39mL MetaCell® CHO-320 Plus于125mL摇瓶中，37°C预热20-30分钟。
- 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，冻存管里细胞冰块即将消失时取出（如使用干冰运输细胞，应放置在液氮环境下3-7天后再进行细胞复苏）。
- 取9mL提前预热的MetaCell® CHO-320 Plus添加入15mL离心管中，将复融后的细胞转移至其中轻轻震荡混匀，混匀后取样测定细胞的密度和活率。
- 取适量细胞，1000rpm离心4分钟后，弃上清，使用已预热的MetaCell® CHO-320 Plus重悬离心后的细胞，推荐最终细胞密度0.3-0.4 x 10⁶ cells/mL，于125mL摇瓶中进行培养，此时最终培养体积为30mL。
- 将摇瓶置于细胞培养摇床培养，建议摇床培养参数37°C，8% CO₂，95±5 rpm（振幅50mm）。
- 培养3-4天，进行传代操作，细胞密度应≥3.0 x 10⁶ cells/mL，活率≥90%。

▲ 注意：

1. 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。
2. 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. 将MetaCell® CHO-320 Plus在37°C条件下复温20-30min，或在室温条件下复温1 h后进行传代操作。
2. 在摇瓶中添加适量预热的MetaCell® CHO-320 Plus，将所需种子液转移至摇瓶中并轻轻摇晃混匀，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. 建议接种方式：
3天传代接种密度： $0.3-0.5 \times 10^6$ cells/mL。
4天传代接种密度： $0.15-0.3 \times 10^6$ cells/mL。
4. 最终细胞密度达到 $5.0-7.0 \times 10^6$ cells/mL，细胞活率 $\geq 95\%$ 即可传代。
5. 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. 准备冻存液（90% MetaCell® CHO-320 Plus + 10% DMSO），2-8°C下预冷30分钟备用。
3. 最终的细胞冻存密度应控制在 $10.0-15.0 \times 10^6$ cells/mL。细胞计数后取适量悬液，1000rpm离心4分钟，弃上清，用预冷的冻存液重悬。按照冻存规格，立即将细胞悬液分装至冻存管中。
4. 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°C/分钟）。
5. 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°C至-125°C）储藏。

▲ 注意：

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 Plus，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 Plus。

▲ 注意：

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 $\geq 95\%$ 。

• 直接驯化法

1. 对于可以直接驯化的细胞，当细胞活率 $\geq 95\%$ 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 Plus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 Plus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 $\geq 95\%$ ，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 Plus，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 Plus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 Plus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 Plus所占的比例 (50:50, 75:25)，直到使用100%的MetaCell® CHO-320 Plus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 $5.0-7.0 \times 10^6$ 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 Plus，并且以常用的接种密度传代培养。
2. 转染前一天以 3.0×10^6 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。

▲ 扫描右侧二维码，联系我们，获取如下帮助：

- 思鹏生物CHO Transfectory系统操作指南
- 技术支持服务
- 相关参考文献



微信公众号



技术支持

产品订购信息：

产品	类别	形态	目录号	包装规格
MetaCell® CHO TransFeed	补料	液体	L1008-0500	500mL
			L1008-1000	1000mL
MetaCell® Titer Enhancer	添加剂	液体	L1009-0010	10mL
			L1009-0100	100mL
MetaCell® Hi4-Transient Kit	一体化解决方案试剂盒	/	L1016	1 kit

-----最初编制日期：2024.08 -----最新修订日期：2024.10 -----