

# 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 | P1018-X010 | 10L  | 2-8℃，<br>密闭、避光 | 12个月<br>(暂定) | CHO细胞瞬时转染 |
|                        | P1018-X100 | 100L |                |              |           |
|                        | P1018-X500 | 500L |                |              |           |

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：Exp CHO-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℃，8%CO <sub>2</sub> ，湿度≥80%，确保适当的气体交换并尽量避光培养 |       |         |         |           |           |

### MetaCell® CHO-320 Plus配液方法 (以1kg为例)

- 在干净的容器中添加930-950g的超纯水或注射用水（水温20-30℃）。
- 称取23.439-23.675g培养基干粉缓慢倒入培养基容器，搅拌30分钟。培养基每升标示量：23.557g/L。
- 添加碳酸氢钠1.791-1.809g至培养基溶液中，搅拌10分钟至完全溶解。碳酸氢钠每升标示量：1.800g/L。
- 添加5mol/L氢氧化钠溶液调节pH至6.95-7.05。
- 补水定容至溶液净重为998-1002g，搅拌10分钟。
- 使用0.22µm除菌级滤膜除菌过滤至合适容器，2-8℃避光保存，并于12个月内使用完毕。

## 细胞复苏

1. 取39mL MetaCell® CHO-320 Plus于125mL摇瓶中，37°C预热20-30分钟。
2. 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）。
3. 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。
4. 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 $0.3-0.4 \times 10^6$  cells/mL，于125mL摇瓶中进行培养，此时最终培养体积为30mL。
5. 将摇瓶置于细胞培养摇床培养，建议摇床培养参数37°C，8% CO<sub>2</sub>，95±5 rpm（振幅50mm）。
6. 培养3-4天，进行传代操作，细胞密度应 $\geq 3.0 \times 10^6$  cells/mL，活率 $\geq 90\%$ 。

### ▲ 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≥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 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≥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. 将原培养基与 MetaCell® CHO-320 Plus 按体积比75:25混合，细胞接种密度为 $0.15-0.5 \times 10^6$  cells/mL。
2. 培养3-4天后，细胞密度达到  $4.0-6.0 \times 10^6$  cells/mL时传代。
  - (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 $3.0 \times 10^6$  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 $6.0 \times 10^6$  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 <sup>®</sup> CHO-320 Plus      | 培养基        | 液体 | L1018-0500 | 500mL  |
|                                         |            |    | L1018-1000 | 1000mL |
| MetaCell <sup>®</sup> CHO TransFeed     | 补料         | 液体 | L1008-0500 | 500mL  |
|                                         |            |    | L1008-1000 | 1000mL |
|                                         |            | 干粉 | P1008-X001 | 1L     |
|                                         |            |    | P1008-X010 | 10L    |
|                                         |            |    | P1008-X100 | 100L   |
| MetaCell <sup>®</sup> Titer Enhancer    | 添加剂        | 液体 | L1009-0010 | 10mL   |
|                                         |            |    | L1009-0100 | 100mL  |
| MetaCell <sup>®</sup> Hi4-Transient Kit | 一体化解决方案试剂盒 | /  | L1016      | 1 kit  |

-----最初编制日期: 2025.01 -----最新修订日期: NA -----

思鹏生物  
Cellplus Bio

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