

MetaCell™ CHO-310

化学成分确定培养基

产品简介

MetaCell™ CHO-310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、蛋白质和任何动物源成分，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，推荐和MetaCell™ Titer Enhancer、MetaCell™ CHO TransFeed搭配使用。

MetaCell™ CHO-310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。

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-310	P1013-X010	10L	2-8℃， 密闭、避光	12个月 (暂定)	CHO细胞瞬时转染
	P1013-X100	100L			

培养条件

培养基：MetaCell™ CHO-310

培养类型：悬浮

细胞系：ExpiCHO-S、CHO-K1

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	36.5 ± 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					

注：不同品牌的摇瓶，可能有不同的培养体积范围。

MetaCell™ CHO-310配液方法 (以1kg为例)

1. 在干净的容器中添加880-920g的超纯水或注射用水 (水温20-30℃)。
2. 称取19.958-20.038g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：19.998g/L。
3. 添加碳酸氢钠2.096-2.104g至培养基溶液中，搅拌20-25分钟至完全溶解。碳酸氢钠每升标示量：2.100g/L。
4. 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)。
5. 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280±15mOsmol/kg。

7. 使用0.22μm除菌级滤膜除菌过滤至合适容器，2~8℃避光保存。

准备完全培养基

MetaCell™ CHO-310不含谷氨酰胺衍生物，使用前请根据需要添加，推荐用量为6mM。

细胞复苏

1. 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。
2. 从液氮罐中取出一支冻存细胞，置37℃水浴锅中，水浴1-2分钟，注意观察冻存管里细胞冰块状态，当仅剩较小冰晶后取出，冰晶在一次吹打后即会消失。
3. 15mL离心管里添加9mL提前预热的MetaCell™ CHO-310，将复融后的细胞转移至15mL离心管中混匀。

- 1000rpm离心4分钟后，弃上清，使用已预热的MetaCell™ CHO-310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 $0.3-0.4 \times 10^6$ 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。

- 培养3-5天后，当细胞密度 $\geq 3.0 \times 10^6$ 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

- 提前将MetaCell™ CHO-310放入37℃条件下预热20-30分钟。
- 当细胞密度达到 $4.0-6.0 \times 10^6$ cells/mL且活率 $\geq 90\%$ （2-4天）时，即可进行传代培养。
- 推荐的细胞接种密度为 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL。
- 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天用新鲜培养基按上述步骤进行传代培养。
- 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转染或冻存等实验。

细胞冻存

- 准备好足量的处于对数生长早期且细胞活率 $>95\%$ 的细胞作为冻存用细胞。
- 最终的细胞冻存密度应控制在 $1.0-1.5 \times 10^7$ cells/mL。
- 准备冻存液（90% MetaCell™ CHO-310+10%DSMO），2-8℃下预冷30分钟以上备用。
- 取适量细胞悬液，1000 rpm 离心4分钟，弃上清，用2-8℃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。
- 通过程序降温或人工控制等方式将细胞逐步降温至-80℃ 冷冻状态（降温速率为1℃/分钟）。
- 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-310，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-310。

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

- 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-310中。
- 以 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL的接种密度将CHO细胞接种至新鲜的MetaCell™ CHO-310中（参看细胞传代步骤）。
- 培养3-4天后，检测细胞密度以及活率，此时细胞活率应 $>90\%$ ，如果活率较低，则需要更换驯化的细胞或采用间接驯化法。
- 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

- 用原培养基调整待驯化细胞的密度至 $0.5-0.8 \times 10^6$ cells/mL，加入25%体积的MetaCell™ CHO-310，使得最终细胞密度为 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL。
- 培养3-4天后传代，传代的起始密度仍为 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL，
 - 如细胞生长状态良好，且活率 $>90\%$ ，则传代时调整MetaCell™ CHO-310与原培养基的比例为50:50；
 - 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-310与原培养基以25:75比例混合
- 重复步骤2并逐渐增加MetaCell™ CHO-310所占的比例（50:50，75:25），直到使用100%的MetaCell™ CHO-310进行细胞培养。
- 在100%的MetaCell™ CHO-310中继续培养2-3代，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 $\geq 95\%$ 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

在细胞转染测试开始前，细胞应完全适应MetaCell™ CHO-310，并且以常用的接种密度传代培养。

1. 如以细胞密度达到 6.0×10^6 cells/mL作为转染起始条

件，则细胞传代培养密度为 0.5×10^6 cells/mL，3天后活细胞密度达到 $6.0-7.0 \times 10^6$ cells/mL。

2. 如以细胞密度达到 4.0×10^6 cells/mL作为转染起始条件，则细胞传代培养密度为 0.4×10^6 cells/mL，3天后活细胞密度达到 $4.0-5.0 \times 10^6$ cells/mL。

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 TransFeed	补料	液体	L1008-0500	500mL
MetaCell™ Titer Enhancer	添加剂	液体	L1009-0010	10mL



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