

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	L1013-1000	1000mL	2-8℃， 密闭、避光	12个月 (暂定)	CHO细胞瞬时转染

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。

准备完全培养基

MetaCell® CHO-310含有6mM谷氨酰胺衍生物。

细胞的密度和活率，细胞密度应该在 $0.3-0.4 \times 10^6$ cells/mL。

细胞复苏

- 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。
- 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。
- 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

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

- 使用37℃条件20-30min/室温条件下复温1 h的培养基进行传代。
- 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

培养基进行传代培养。

- 3天传代接种密度: $0.2-0.3 \times 10^6$ cells/mL
4天传代接种密度: $0.1-0.2 \times 10^6$ cells/mL
- 最终细胞密度达到 $4.0-6.0 \times 10^6$ cells/mL, 细胞活率 $\geq 95\%$ 即可传代。
- 细胞解冻复苏后至少传代三次以上, 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, 方可进行转染实验。

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% DMSO), $2-8^\circ\text{C}$ 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 $2-8^\circ\text{C}$ 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°C 冷冻状态(降温速率为 $1^\circ\text{C}/\text{分钟}$)。
- 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°C 至 -125°C) 储藏。

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

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 $0.1-0.3 \times 10^6$ 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 $0.1-0.3 \times 10^6$ 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。

- 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 $7.0-8.0 \times 10^6$ cells/mL。
- 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
			L1008-1000	1000mL
MetaCell® Titer Enhancer	添加剂	液体	L1009-0010	10mL
			L1009-0100	100mL

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