

MetaCell® CHO-320

化学成分确定培养基

产品简介

MetaCell® CHO-320是专为ExpiCHO-S等常用CHO细胞的高效瞬时转染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。MetaCell® CHO-320转染效率高，兼容各种商业化阳离子转染试剂，推荐与PolyPlus FectoPRO®联合使用。

MetaCell® CHO-320已含有4-6mM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	P1015-X010	10L	2-8℃, 密闭、避光	12个月 (暂定)	CHO细胞瞬时转染
	P1015-X100	100L			

MetaCell® CHO-320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

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） 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	37±0.5℃，8%CO ₂ ，湿度≥80%，确保适当的气体交换并尽量避光培养					

MetaCell® CHO-320配液方法 (以1kg为例)

- 在干净的容器中添加880-900g的超纯水或注射用水（水温20-30℃）。
- 称取21.364-22.227g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：21.792g/L。
- 添加碳酸氢钠2.096-2.104g至培养基溶液中，搅拌至完全溶解。碳酸氢钠每升标示量：2.100g/L。
- 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）。
- 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。
- 取样检测渗透压，渗透压范围为290±20mOsmol/kg。
- 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，置于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，建议立即解冻细胞，或将冻存管放置在液氮环境中储存72小时以上，使细胞适应直到解冻，避免短期、极端的温度变化，不要在-80°C储存细胞）。
3. 取9mL提前预热的MetaCell[®] CHO-320添加入15m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重悬离心后的细胞，推荐最终接种细胞密度为 $0.3-0.4 \times 10^6$ 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% CO₂，95±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，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，建议每3-4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 $4.0-6.0 \times 10^6$ cells/mL（即早期对数生长期），细胞活率 $\geq 95\%$ 即可传代。传代时密度超出早期对数生长期可能延长细胞倍增时间，且滴度随时间而下降。调整接种密度，使传代时的细胞密度达到 $4.0-6.0 \times 10^6$ cells/mL。
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，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 + 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。

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，如果直接更换培养基（直接驯化）失败，则推荐采用梯度替换法（间接驯化）。

▲ 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

1. 对于可以直接驯化的细胞，以 $0.15-0.5 \times 10^6$ cells/mL的接种密度将CHO细胞接种至新鲜的MetaCell[®] CHO-320中（参考细胞传代步骤）。
2. 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。
3. 继续传代3-4次，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≥95%时，认为驯化完成，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 $0.4-0.8 \times 10^6$ cells/mL，加入25%体积的MetaCell[®] CHO-320，使得最终细胞密度为 $0.3-0.6 \times 10^6$ cells/mL。
2. 培养3-4天后传代，传代的起始密度仍为 $0.15-0.5 \times 10^6$ 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。此时的混合培养基仍为MetaCell[®] CHO-320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所占的比例（50:50，75:25），直到使用100%的MetaCell[®] CHO-320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 $4.0-6.0 \times 10^6$ cells/mL，且细胞活率≥95%时，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. 转染前一天以 $3.0-3.5 \times 10^6$ cells/mL的活细胞密度接种活化。
2. 转染当天，细胞密度应达到 $6.0-8.0 \times 10^6$ cells/mL，用预热过的新鲜MetaCell[®] CHO-320将细胞稀释到 6.0×10^6 cells/mL，细胞活率≥95%即可转染。
3. 具体转染操作请参考思鹏生物MetaCell[®] CHO Transfectory瞬时蛋白表达系统操作指南。

▲ 扫描右侧二维码，联系我们，获取如下帮助：

- MetaCell[®] CHO Transfectory瞬时蛋白表达系统操作指南
- 技术支持服务
- 相关参考文献



微信公众



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-320	培养基	干粉	P1015-X010	10L
			P1015-X100	100L
		液体	L1015-1000	1000mL
MetaCell [®] CHO-320 Plus	培养基	液体	L1018-0500	500mL
			L1018-1000	1000mL
MetaCell [®] CHO TransFeed	补料	液体	L1008-0100	100mL
			L1008-1000	1000mL
MetaCell [®] Titer Enhancer	添加剂	液体	L1009-0010	10mL
			L1009-0100	100mL
MetaCell [®] PEI 40K	转染试剂	液体	L5001-0010	10mL
			L5001-0100	100mL
MetaCell [®] Hi4-Transient CHO	CHO瞬时转染一体化解决方案	液体	L1016	1 kit

-----最初修订日期：2023.12-----最新修订日期：2024.10-----

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