

# MetaCell<sup>®</sup> BHK-200

## 化学成分确定培养基

### 产品简介

MetaCell<sup>®</sup> BHK-200 是一款化学成分确定的无血清培养基，专为BHK-21细胞高密度悬浮培养设计开发，适用于基于BHK-21细胞的疫苗的研发和大规模生产。BHK-21细胞可在本款培养基中实现快速从有血清到无血清的驯化，并保持高细胞密度和高细胞活性。

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 <sup>®</sup> BHK-200	研发样品	1000mL	2-8°C, 密闭、避光	12个月(暂定)	BHK-21细胞高密度 悬浮培养

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<sup>®</sup> BHK-200

细胞系: BHK, BHK-21

培养类型: 悬浮

培养参数设置:

摇瓶体积	125mL	250mL	500mL	1L
培养体积 (mL)	30-35	60-70	120-140	240-280
摇床转速	155 ± 5 rpm (振幅 19mm) 150 ± 5 rpm (振幅 25mm) 130 ± 5 rpm (振幅 50mm)			
摇瓶类型	PETG 或者 PC 材质, 透气, 无挡板			
培养环境	37 ± 0.5 °C, 5% CO <sub>2</sub> , 湿度≥80%, 确保适当的气体交换并尽量避光培养			

### 细胞复苏

- 以冻存密度 $15.0-18.0 \times 10^6$  cells/mL, 复苏体积20mL为例。取29mL MetaCell<sup>®</sup> BHK-200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, 快速解冻 (<1 分钟), 冻存管里细胞冰块即将消失时取出。
- 取9mL提前预热的MetaCell<sup>®</sup> BHK-200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, 使用已预热好的MetaCell<sup>®</sup> BHK-200重悬离心后的细胞, 推荐最终接种密度为 $0.5-0.7 \times 10^6$  cells/mL, 于125mL摇瓶中进行培养, 此时最终培养体积为20mL。
- 将摇瓶置于细胞培养摇床培养, 建议摇床培养参数37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 130±5 rpm (振幅50mm), D2细胞密度为 $3.0-5.0 \times 10^6$  cells/mL。
- 细胞活率≥95%时进行传代培养, 推荐至少传代三次后进行后续实验。

## 细胞传代

1. 将MetaCell® BHK-200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® BHK-200，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天用新鲜培养基进行传代培养。
3. 推荐接种密度：0.5-0.7×10<sup>6</sup> cells/mL。
4. 最终细胞密度达到4.0-6.0×10<sup>6</sup> cells/mL，细胞活率≥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，方可进行后续实验。

## 细胞冻存

1. 准备好足量的处于对数生长早期且细胞活率≥95%的细胞作为冻存用细胞。
2. 准备冻存液（90% MetaCell® BHK-200 + 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15.0-18.0 × 10<sup>6</sup> 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BHK-21细胞可以直接适应MetaCell® BHK-200，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）。

### ▲ 注意：

用于驯化的BHK-21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，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® BHK-200中。
2. 以0.5-0.7 × 10<sup>6</sup> cells/mL的接种密度将BHK-21细胞接种至新鲜的MetaCell® BHK-200中（参看细胞传代步骤）。
3. 培养2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。
4. 继续传代3-5次，当细胞密度在接种的2天内达到4.0-6.0 × 10<sup>6</sup> cells/mL，且细胞活率≥95%时，认为驯化完成。

#### • 间接驯化法

1. 将原培养基与MetaCell® BHK-200按体积比75:25混合，细胞接种密度为0.5-0.7 × 10<sup>6</sup> cells/mL。
2. 培养2天后，细胞密度达到4.0-6.0 × 10<sup>6</sup> 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® BHK-200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® BHK-200与原培养基以25:75比例混合。

3. 重复步骤2并逐渐增加MetaCell® BHK-200所占的比例 (50:50, 75:25) , 直到使用100%的MetaCell® BHK-200进行细胞培养。
4. 继续传代2-3次, 当细胞密度在接种的2天内达到 $4.0-6.0 \times 10^6$  cells/mL, 且细胞活率 $\geq 95\%$ 时, 认为驯化完成。

• **去血清驯化**

1. 如果细胞目前培养于添加血清的培养基中, 则需要进行减血清驯化, 下面为细胞驯化要点:
  - (1) 选用低代次, 对数期细胞开始驯化;
  - (2) 减血清可按照 10%、5%、2.5%、1%、0%顺序进行, 在每个血清含量进行细胞传代, 直至细胞生长正常, 再进入下一个血清浓度。
2. 最终可以在完全无血清或添加1%血清的MetaCell® BHK-200中稳定生长。



[www.cellplusbio.com](http://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