

MetaCell® CHO-100

化学成分确定培养基

产品简介

MetaCell® CHO-100 培养基是为批培养（Batch）和流加培养（Feed-batch）中国仓鼠卵巢细胞（CHO）而设计的高性能、高产量细胞培养基。该培养基化学成分确定（chemically defined），不含任何动物来源成分，无水解物、无蛋白。MetaCell® CHO-100 不含酚红和谷氨酰胺，含有6g/L葡萄糖，可用于GS筛选系统的CHO-K1、CHO-K1SV等细胞株的培养。MetaCell® CHO-100 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。

产品名称	形态	产品编码	包装规格	储存条件	有效期	推荐适用范围
MetaCell® CHO-100	液体	L1003-0500	500mL	2-8℃， 密闭、避光	12个月 (暂定)	适用于CHOK1， CHO-K1SV等细 胞系的高密度培 养和稳定表达
		L1003-1000	1000mL			

培养条件

培 养 基：MetaCell® CHO-100
培 养 类 型：悬 浮
细 胞 系：CHO-K1、CHO-K1SV
培养参数设置：

摇瓶体积	125mL	250mL	500mL	1L
培养体积（mL）	25-35	60-80	120-160	240-300
摇床转速	150 ± 5 rpm（振幅 19mm） 145 ± 5 rpm（振幅 25mm） 120 ± 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%-8% CO ₂ ，湿度≥80%，确保适当的气体交换并尽量避光培养			

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。
- 提前取39mL MetaCell® CHO-100于125mL摇瓶中37℃预热。
- 从液氮罐中取出一支冻存细胞，置于37℃恒温水浴锅中，水浴1-2分钟，注意观察冻存管中细胞冰块状态。
- 15mL离心管中添加9mL预热的MetaCell® CHO-100，将复融后的细胞转移至其中混匀。

5. 1000rpm离心4分钟后，弃上清，使用已预热的MetaCell[®] CHO-100重悬细胞，然后全部细胞转移至125mL摇瓶中，最终培养体积为30mL。混匀后取样测定细胞密度和活率，细胞密度范围应在 $0.2-0.3 \times 10^6$ Cells/mL。

注：通常细胞活率在解冻后24h内略有下降，培养3-4天后，会逐渐恢复到90%以上。

6. 培养3-4天，待细胞状态进入对数生长中期后，以 $0.4-0.6 \times 10^6$ Cells/mL细胞密度进行传代培养。

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

1. 提前将MetaCell[®] CHO-100放入37°C条件下预热20-30分钟。
2. 当活细胞密度达到 $3.0-4.0 \times 10^6$ Cells/mL且活率 $\geq 95\%$ （3-4天）时，即可进行传代培养。
3. 推荐细胞接种密度为： $0.4-0.6 \times 10^6$ Cells/mL。
4. 无菌转移种细胞液至摇瓶中，并添加适量的已预热MetaCell[®] CHO-100，参考培养条件设置摇床参数，每3-4天用新鲜MetaCell[®] CHO-100按上述步骤进行传代培养。
5. 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. 最终的细胞冻存密度应控制在 $10.0-15.0 \times 10^6$ Cells/mL。
3. 提前配置冻存液（90% MetaCell[®] CHO-100 + 10% DMSO），2-8°C预冷30分钟备用。
4. 取适量细胞悬液，1000rpm离心4分钟，弃上清，用2-8°C预冷的冻存液重悬后，按照冻存规格，立即将细胞悬液分装至冻存管中。
5. 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）。
6. 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。
7. 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

大多数情况下，无血清培养的CHO细胞可以直接适应MetaCell[®] CHO-100培养基，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-100。

注：用于驯化的CHO细胞需处于对数生长期的早期，且活率 $\geq 95\%$ 。

• 直接驯化法

1. 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-100中。
2. 将细胞以 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL密度从原始培养液中直接转移接种到100% MetaCell[®] CHO-100中（转移过程无需完全去除原培养基）。
3. 每3-4天进行传代培养，连续传代至少3-5次，如细胞增殖速率恢复到适应前水平且细胞活率高于95%，可认为细胞已经完全适应了MetaCell[®] CHO-100，后续可进行正常的细胞传代、转染和冻存。
4. 如直接适应方法无效，请尝试间接驯化方法。

• **间接驯化法**

1. 将细胞以 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL的活细胞密度接种。
2. 培养3-4天后传代,
 - (1) 如细胞生长状态良好, 且活率 $\geq 90\%$, 则传代时调整MetaCell[®] CHO-100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-100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-100所占的比例 (50:50, 75:25) , 直到使用100%的MetaCell[®] CHO-100进行细胞培养。
4. 在100% MetaCell[®] CHO-100中继续培养2-3代, 当细胞密度在接种的3-4天内达到 $3.0-4.0 \times 10^6$ 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和冻存。

批培养测试

批培养测试开始前, 细胞应完全适应MetaCell[®] CHO-100, 并且以常用的接种密度传代培养。在整个培养过程中, 应密切注意细胞活率、活细胞密度和蛋白的产量。

步骤如下:

1. 第0天, 细胞接种密度 $0.4-0.6 \times 10^6$ Cells/mL, 125mL摇瓶装30mL培养基 (参照培养参数设置) 。
2. 每隔一天取样作细胞计数和培养基生化检测, 培养后期留样进行表达量检测。
3. 批培养过程中, 应保持葡萄糖含量不低于2g/L, 如果葡萄糖含量低于2g/L, 补加至4g/L。(注意: 本产品含6g/L葡萄糖)
4. 当细胞活率低于90%或累计培养10天, 批培养结束。

相关产品订购信息：

产品	类 别	形 态	目录号	包装规格
MetaCell® CHO-100	培养基	液体	L1003-0500	500mL
			L1003-1000	1000mL
		干 粉	P1003-X010	10L
			P1003-X100	100L
			P1003-X500	500L
MetaCell® Feed-100A High Glucose	补料	液体	L1022-0500	500mL
			L1022-1000	1000mL

-----最初修订日期： 2024.05-----最新修订日期： 2025.05-----

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厂房
电话： 0512-67332699
邮箱： Service@cellplusbio.com