

MetaCell™ Vero-200

无血清培养基

产品简介

MetaCell™ Vero-200 是一种无血清培养基，无任何动物源成分。

MetaCell™ Vero-200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。

MetaCell™ Vero-200 不含有谷氨酰胺，使用时需要根据需求额外添加（推荐添加量为4mM谷氨酰胺）。

产品名称	形态	产品编码	包装规格	储存条件	有效期	推荐使用范围
MetaCell™ Vero-200	液体	L3001-1000	1000mL	2-8°C, 密闭、避光	12个月 (暂定)	Vero贴壁细胞生长, 支持疫苗、病毒生产

推荐培养条件

培养基:MetaCell™ Vero-200

细胞系:Vero

培养类型:贴壁

培养参数设置:

培养方瓶规格	T25	T75	T175
培养体积 (mL)	4-6	14-20	35-45
培养方瓶类型	PS 材质		
培养环境	37±0.5 °C, 5-8% CO ₂ , 湿度≥80%, 尽量避光培养		

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 °C水浴锅中，水浴1-2分钟，注意观察冻存管里细胞冰块状态。
3. 15mL离心管里添加9mL预热的完全 MetaCell™ Vero-200，将复苏后的细胞转移至15mL离心管中混匀。
4. 100×g离心5分钟后，弃上清，使用已预热的完全 MetaCell™ Vero-200重悬细胞，然后全部转移至T25培养方瓶中，最终培养体积为4-6mL。
5. 当细胞长满培养瓶80-100%时（复苏1-3天后），可以进行传代培养，在其他应用前，至少传代3次。

注:若细胞复苏3代后，细胞生长状态正常，应尽快安排冻存。

细胞传代

1. 细胞培养72小时后使用倒置显微镜观察细胞生长情况，细胞已长满大约90%左右则可以准备传代（通常3-5天）。
2. 以T25方瓶为例弃去培养方瓶中的培养液，用2mL已预热的PBS溶液（不含Ca²⁺或Mg²⁺离子）冲洗方瓶中的单层细胞。
3. 向方瓶中加入1-2mL已预热的胰蛋白酶溶液（0.25%胰蛋白酶-EDTA），确保所有细胞浸润到胰蛋白酶溶液。
4. 弃去胰蛋白酶溶液，放回培养箱中孵育4-7min，镜检观察细胞消化情况。

5. 当镜检下细胞全部变成卵圆形，轻拍瓶壁细胞可以成股流下时，加入4-5mL预热好的完全MetaCell™ Vero-200，用移液器轻轻吹打细胞面，彻底冲洗细胞面。
6. 将细胞悬液移至15mL无菌离心管中，以100×g离心5分钟，弃去上清，使用4-5mL预热好的完全MetaCell™ Vero-200 重悬细胞，如果观察到细胞结块，则通过移液器轻轻吹打或涡旋振荡使细胞分散。
7. 使用细胞计数器对重悬细胞液计数以 $3.0-5.0 \times 10^4$ cells/cm²接种培养方瓶。

细胞冻存

1. 最终的细胞冻存密度应控制在 $3.0-5.0 \times 10^6$ cells/mL。
2. 提前配制冻存液:92.5% 完全MetaCell™ Vero-200 (新鲜培养基和条件培养基的比例为50:50) +7.5% DMSO, 2-8 °C预冷30分钟备用。
3. 取适量细胞悬液，100×g离心5-10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（即在1.8mL冻存管中分1mL）。
4. 按照标准程序（每分钟降低1°C），在自动或手动控制速率的冷冻设备中实现冷冻保存。
5. 将冷冻细胞转移至液氮（气相）中储存。

细胞驯化

大多数情况下，无血清培养或低血清培养（3%及3%以下）的Vero细胞可以直接适应MetaCell™ Vero-200，含5%-10%血清培养的Vero细胞需要在完全MetaCell™ Vero-200中，梯度降低血清含量，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Vero细胞适应MetaCell™ Vero-200。

注:用于驯化的Vero细胞需要处于对数生长期的中早期，且活率≥90%。

● 直接驯化法

1. 对于可以直接驯化的细胞，当细胞活率≥90%且处于对数生长中早期时，可尝试直接从无血清培养基或低血清

培养（3%及3%以下）接种到完全MetaCell™ Vero-200中，前2到3次传代的接种密度应是正常接种密度的两倍，继续传代3-5次，保证细胞生长一致后可以开始后续实验。

2. 含5-10%血清培养的Vero细胞，在保证细胞活率≥90%且处于细胞对数生长中早期时，可尝试直接接种到含3%血清的完全MetaCell™ Vero-200中，传代2-3次，细胞状态及生长正常后，将血清降至1%，继续传代2-3次，细胞状态及生长正常后，传至无血清的完全MetaCell™ Vero-200中，继续传代3-5次，细胞状态及生长正常后，可以开始后续实验。

● 间接驯化法

1. 将原培养基和完全MetaCell™ Vero-200按75:25比例混合（如原培养过程中含有血清，则按原培养基血清含量向MetaCell™ Vero-200中添加血清），接种密度为正常传代的1.5-2倍。
2. 培养3-4天后，细胞长满培养方瓶的90%左右传代，传代的接种密度仍为正常传代的1.5-2倍。
 - (1) 如细胞生长状态良好，且活率≥90%，则传代时调整原培养基与完全MetaCell™ Vero-200 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100×g离心5分钟。此时的混合培养基依旧为原培养基和完全MetaCell™ Vero-200 以75:25比例混合。
3. 重复步骤2并逐渐增加完全MetaCell™ Vero-200 所占的比例（推荐比例 50:50, 25:75），直到使用100%的完全MetaCell™ Vero-200进行细胞培养。
4. 在100%的完全MetaCell™ Vero-200 中继续培养2-3代，当细胞生长一致后，可认为驯化完成，连续稳定传代3代以上，可进行后续实验。
5. 若原培养方式中含有较高血清（5%-10%）成分，则可在间接驯化后进行梯度无血清驯化，具体驯化过程可参考，直接驯化法步骤2。