

MetaCell™ CHO-200培养基使用说明书 (LM)

产品简介

MetaCell™ CHO-200培养基是为批培养 (Batch) 和流加培养(Feed-batch)CHO细胞来获得高性能和高产量的蛋白而开发的。该培养基是一种无动物来源成分、无水解物、化学成分限定的培养基，不含酚红和谷氨酰胺，含有6g/L葡萄糖，适用于生长因子依赖型CHO细胞株的培养。

产品名称	产品编码	包装规格	储存条件	有效期
MetaCell™ CHO-200培养基	L1004-1000	1000mL	2-8°C, 密闭、避光	12个月 (暂定)

注：失效日期见产品标签，推荐用于研究用途。

准备完全培养基：

MetaCell™ CHO-200培养基使用前可根据需要补加：

1. 4-6mM的无菌L-谷氨酰胺溶液。
2. 无菌HT 溶液。
3. 无菌葡萄糖溶液。
4. 无菌抗结团剂。

适应MetaCell™ CHO-200培养基

多数CHO细胞可以直接从无血清培养基适应到MetaCell™ CHO-200，如果有需要，也可以通过逐渐驯化使其适应于MetaCell™ CHO-200培养基中生长。在开始适应过程前，细胞活率必须高于95%，且细胞处于对数生长中期。

• 直接适应

1. 将细胞以 $0.5-1.0 \times 10^6$ cells/mL密度从原始培养液中直接转移接种到100% MetaCell™ CHO-200培养基中(转移过程无需完全去除原培养基)。
2. 每2-3天进行传代培养，连续传代至少2周，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-200培养基。之后，可将接种密度降低至 0.5×10^6 Cells/mL。

3. 如直接适应方法无效，请尝试驯化适应方法。

• 驯化适应

1. 将细胞以 $0.5-1.0 \times 10^6$ Cells/mL的活细胞密度接种，使用MetaCell™ CHO-200基础培养基与原始培养基混合物对细胞进行传代培养，并逐步提高MetaCell™ CHO-200培养基比例(依次为50:50, 75:25, 90:10, 100:0, MetaCell™ CHO-200培养基在前)。每次调整培养基比例时，需要进行连续多代次的培养。
2. 在适应过程中，每2-3天或细胞密度达到 $3.0-4.0 \times 10^6$ Cells/mL时进行传代，并保持细胞活率高于95%。
3. 在100% MetaCell™ CHO-200培养基中适应多代后。以 $0.4-0.6 \times 10^6$ Cells/mL细胞密度接种并培养3-4天后，活细胞密度达到 $3.0-4.0 \times 10^6$ Cells/mL且细胞活率高于95%的情况下，可以认为细胞已经完全适应了MetaCell™ CHO-200培养基。

冻存

1. 准备好足量的处于对数生长中期且细胞活率>95%的细胞作为冻存用细胞。

2. 确定活细胞密度并计算所需冷冻保存培养基的体积，以获得最终的细胞密度 $>1.0 \times 10^7$ Cells/mL。
3. 准备冻存培养基(90% MetaCell™ CHO-200培养基和

10%DSMO)于2-8°C下预冷备用。

4. 取培养液100 × g离心4分钟，去除上清，用2-8°C预冷的冻存培养基重悬。
5. 按照冻存规格，立即将细胞悬液分装至冻存管中。
6. 通过程序降温或人工控制等方式将细胞逐步降温至冷冻状态(降温速率为1°C/分钟)。
7. 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。

复苏

1. 2分钟内在37°C恒温水浴中快速融化。
2. 将冻存管内细胞液转移至装有9mL预热MetaCell™ CHO-200培养基的15mL离心管内。
3. 离心除去上清液，用新鲜MetaCell™ CHO-200培养基重悬。
4. 将细胞转移至125mL摇瓶中，置于37°C，5%-8% CO₂，115-125 rpm (轴距：50mm)摇床中培养。
5. 培养3-5天，待细胞状态进入对数生长中期后，以0.5x10⁶ Cells/mL细胞密度进行传代培养。

培养

• 传代培养

1. 用细胞计数仪测定活细胞密度，以0.4-0.6x10⁶ Cells/mL活细胞密度接种至装有预热MetaCell™ CHO-200培养基的无菌摇瓶中(例如：125mL摇瓶装30mL培养基)。
2. 置于37°C，5%-8% CO₂，115-125 rpm (轴距：50mm)摇床中培养。
3. 待活细胞密度达到3.0-4.0x10⁶ Cells/mL时用新鲜MetaCell™ CHO-200培养基进行传代培养。

• 批培养测试

在批培养测试开始前，细胞应完全适应MetaCell™ CHO-200培养基，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0.5x10⁶ Cells/mL，125mL摇瓶装30mL培养基。
2. 置于37°C，5%-8% CO₂，115-125 rpm (轴距：50mm)摇床中培养。
3. 每隔一天取样作细胞计数和培养生化检测，培养后期留样进行表达量检测。
4. 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)
5. 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	目录号	包装规格	储存条件	有效期
MetaCell™ Feed-200A培养基	L1005-0125	125mL	2-8°C，密闭、避光	6个月(暂定)
	L1005-1000	1000mL		
MetaCell™ Feed-200B培养基	L1006-0025	25mL	2-8°C，密闭、避光	6个月(暂定)
	L1006-0500	500mL		



www.cellplusbio.com

地址：江苏省苏州市高新区大同路20号
三区2号3幢厂房

电话：0512-67332699

邮箱：Service@cellplusbio.com