

ExCell Bio

OptiVibro[®] CHO 无血清瞬转补料培养基 CA06 说明书

本品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗

货 号

CA000-N031

CA000-N032

CA000-N033

CA000-N034

CA000-N035



产品概述

OptiVibro® CHO 无血清瞬转补料培养基 CA06 是不含有任何动物性来源成分、化学成分明确的补料培养基 (Chemically Defined Feed)，适用于高密度培养悬浮 CHO-K1、CHO-S 细胞，提高重组蛋白产量，尤其适用于 ExpiCHO-S 细胞，本产品无需额外添加谷氨酰胺。需与 OptiVibro® CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 (货号：CE000-N052) 联合使用，以提高蛋白产量。

产品规格及储存、运输要求

产品名称	货号	规格	存储条件	运输条件	有效期
OptiVibro® CHO 无血清瞬转 补料培养基 CA06	CA000-N031	50 mL 液体	2-8 °C 遮光	< 10°C 遮光	12 个月
	CA000-N032	100 mL 液体			
	CA000-N033	1000 mL 液体			
	CA000-N034	1 L 粉体	2-8°C 干燥、避光	< 10°C 避光	24 个月
	CA000-N035	10 L 粉体			

产品注意事项

- 产品存储过程中需要遮光，避免日光灯或其他灯光照射，在冰箱或仓库储存时建议使用有色包装袋。
- 产品运输过程中需要遮光运输，避免日光或其他灯光照射对产品的外观产生影响导致外观变色。
- 产品在使用过程中需要转运至洁净区内时，灭菌方式只能采用消毒剂擦拭灭菌，不能使用紫外灭菌。

【注意】：在经过带有紫外的传递窗时，需要主动关闭传递窗内的紫外灯。

I 操作方法

粉体制备方法

1. 取洁净的配制容器，加入最终配制体积 60% 的注射用水或细胞培养级用水；
2. 称量干粉培养基 157.64g/L，缓慢加入水中，搅拌 60 分钟；
3. 缓慢加入 5N NaOH 溶液（约 34mL），调节 pH 至 8.50-8.60 后，搅拌 60 分钟；
4. 缓慢加入 6N HCl 溶液（约 9mL），调节 pH 至 7.00-7.10 后，搅拌 10 分钟；
5. 加入注射用水或细胞培养级用水定容至最终体积，继续搅拌 10 分钟；
6. 测量 pH 和渗透压，pH 应为 6.90-7.50，渗透压应为 280-320 mOsm/kg（稀释 5 倍测定值）；
7. 0.22 μ m 滤膜除菌过滤后，2-8 $^{\circ}$ C 遮光保存。

培养条件

建议摇床培养条件，温度：37 $^{\circ}$ C；相对湿度：80%，CO₂ 浓度：5%，摇床转速：120 rpm。根据细胞生长情况，每 2-4 天传一次代，当活细胞密度达到 4.0-6.0 $\times 10^6$ /mL 时，即可进行传代，传代细胞密度为 0.2-0.3 $\times 10^6$ /mL。

转染方法建议

1. 细胞复苏后，稳定传代 3 次后用于转染实验，保证细胞活率大于 90%；
2. 转染前一天，注意将种子细胞全部离心更换至新鲜的 OptiViro[®] CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 中，按照 3.5 $\times 10^6$ cells/mL 接种；如采用不离心操作，直接进行转染，可能不同程度降低表达蛋白产量（不同表达分子及表达体系有所不同）；
3. 转染当天，按照 20 mL/125 mL 摇瓶培养体系，将细胞用新鲜的 OptiViro[®] CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 调整到 18 mL，细胞总量 1.2 $\times 10^8$ cells，保证最终细胞转染密度为 6.0 $\times 10^6$ cells/mL；
4. 制备 PEI/DNA 复合物：

本方案中，转染体系 20 mL，细胞密度 6 $\times 10^6$ cells/mL，DNA 浓度 1.5 μ g /mL，DNA : PEI=1 : 4，具体操作如下：

- 1) PEI Max: 将 120 μg PEI Max 用 OptiVibro[®] CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 稀释至 1 mL 体系, 室温孵育 5 min;
- 2) DNA: 将 30 μg DNA 用 OptiVibro[®] CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 稀释至 1 mL 体系;
- 3) 将 PEI Max 加入到 DNA 中, 形成 PEI/DNA 复合物, 混匀, 室温孵育 10 min;
5. 将制备好的 2 mL PEI/DNA 复合物缓慢添加到 18mL 细胞悬液中, 该步骤注意边摇晃摇瓶, 边加混合物稀释液, 保证细胞与混合物的充分接触混匀;
6. 培养 18-24 小时后, 添加 5% 体积的 OptiVibro[®] 无血清瞬转补料培养基 CA06, 并补糖至 22 g/L, 降温至 33°C;
7. 根据需求, 用户可自行选择是否添加 OptiVibro[®] 蛋白表达增强剂 (货号: M101412C), 添加量参考表 1, 该增强剂可在转染后第 1 天或第 3 天添加, 最终蛋白表达量与仅使用 OptiVibro[®] CHO 无血清瞬转补料培养基 CA06 相比, 可有不同程度的提升。
8. 根据需求, 可选择多次补料:
 - 1) 如短周期培养: 一次性补料即可;
 - 2) 若希望得到更高产量, 可选择 D01、D03, 甚至 D01、D03、D06, 两次到三次补料方式, 分别补料 5% 的 OptiVibro[®] CHO 无血清瞬转补料培养基 CA06;

定期监测细胞生长和葡萄糖含量, 通常在转染后 10 天进行蛋白的收获, 也可根据目的蛋白特性和细胞活率确定合适的收获时间。

以上转染方法仅供参考, 为获得针对不同 CHO 细胞最优转染条件, 可进行 DoE 设计 (细胞密度、DNA 含量、DNA 与 PEI 比例), 确定最佳实验方案。

表 1. 不同转染规格推荐添加量:

细胞培养容器	125 mL	500 mL	1 L	
细胞数量 ($\times 10^6$ cells)	120	600	1200	细胞密度 6×10^6 cells/mL
OptiVibro [®] CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 (mL)	18	90	180	初始转染体积

DNA 稀释液(mL)	1	5	10	
PEI 稀释液(mL)	1	5	10	
DNA(μg)	30	150	300	DNA:PEI=1:4
PEI Max(μg)	120	600	1200	
OptiViro® CHO 无血清瞬转补料培养基 CA06(mL)	1	5	10	初始转染体积的 5%
蛋白表达增强剂(mL)	0.02	0.1	0.2	初始转染体积的 0.1%
最终培养体系(mL)	~21	~105	~210	

表 2. 相关产品货号：

产品	货号	规格
OptiViro® CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06	CE000-N052	1000 mL 液体
	CE000-N053	1 L 粉体
	CE000-N054	10 L 粉体
	CE000-N055	100 L 粉体
OptiViro® 葡萄糖溶液	M101382C	100 mL 液体
OptiViro® 蛋白表达增强剂	M101412C	1 mL 液体
	M101413C	5 mL 液体

免责声明

1. 产品应按照说明书指导使用，实验者未按说明书操作，本公司不对由此导致的产品性能偏离承担责任；
2. 产品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。