

ExCell Bio

OptiVitro[®] CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 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

User Manual

Catalog Number CE000-N051
CE000-N052
CE000-N053
CE000-N054
CE000-N055



I 简介

OptiViro® CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 是不含有任何动物性来源成分、化学成分明确的培养基 (Chemically Defined Medium)，适用于高密度培养和转染悬浮 CHO-K1、CHO-S 细胞，尤其适用于 ExpiCHO-S 细胞，本产品无需额外添加谷氨酰胺；OptiViro® CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 与 OptiViro® 无血清瞬转补料培养基 CA06 (货号：CA000-N03#) 联用可提高蛋白产量。

产品	货号	规格	保存	保质期
OptiViro®CHO 无血清瞬转 基础培养基 CE06	CE000-N051	500 mL 液体	2-8℃，避光	12 个月
	CE000-N052	1 L 液体		
	CE000-N053	1 L 粉体	2-8℃，干燥、 避光	24 个月
	CE000-N054	10 L 粉体		
	CE000-N055	100 L 粉体		

I 培养条件

建议摇床培养条件，温度：37℃；相对湿度：80%，CO₂浓度：5%，摇床转速：120-150rpm。根据细胞生长情况，每 2-4 天传一次代，活细胞密度达到 $4.0-6.0 \times 10^6$ /mL 时即可进行传代，传代密度为 $0.2 - 0.3 \times 10^6$ cells/mL。

I 粉体配制方法

- 1、以配制 1L 液体培养基为例，取洁净的配制容器，加入最终配制体积 80% 的注射用水；
- 2、称量干粉培养基 23.52g，缓慢加入水中，搅拌 20 分钟；
- 3、缓慢加入 5N NaOH 溶液 (约 3.6mL)，调节 pH 至 8.0-8.1 后，搅拌 30 分钟；
- 4、缓慢加入 6N HCl 溶液 (约 1.6mL)，调节 pH 至 7.0-7.1 后，搅拌 10 分钟；
- 5、加入碳酸氢钠 2.2g，搅拌 10-15 分钟，调节 pH 至 6.9-7.1；
- 6、加入注射用水并定容至 1L，继续搅拌 5 分钟；
- 7、测定渗透压，渗透压范围在 275-305 mOsm/kg；
- 8、0.22 μm 滤膜除菌过滤后，2-8℃ 避光保存。

I 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 OptiVibro® CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 中，按照 3.5×10^6 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 OptiVibro® CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 调整至 18 mL，细胞总量 1.2×10^8 cells，保证最终细胞转染密度为 6×10^6 cells/mL；
- 4、制备 PEI/DNA 复合物：
本方案中，转染体系 20 mL，细胞密度 6×10^6 cells/mL，DNA 浓度 $1.5 \mu\text{g/mL}$ ，DNA : PEI=1 : 4，具体操作如下：
 - (1) PEI Max: 将 $120 \mu\text{g}$ 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 $30 \mu\text{g}$ 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：M10141#），添加量参考表 1，该增强剂须在转染后第 3 天添加，最终蛋白表达量与仅使用 OptiVibro® 无血清瞬转补料培养基 CA06 相比，可有不同程度的提升。
- 8、培养至第 10 天，可收获细胞，或者定期监测细胞生长和葡萄糖含量，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(x 10 ⁶ cells/mL)	120	600	1200	细胞密度 6 x 10 ⁶
CHO 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	
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
OptiVibro [®] 无血清瞬转补料培养基 CA06	CA000-N031	50 mL 液体
	CA000-N032	100 mL 液体
	CA000-N033	1 L 液体
	CA000-N034	1 L 粉体
	CA000-N035	10 L 粉体
OptiVibro [®] 葡萄糖溶液	M101381C	10 mL 液体
	M101382C	100 mL 液体
OptiVibro [®] 蛋白表达增强剂	M101411C	0.5mL 液体
	M101412C	1mL 液体
	M101413C	5mL 液体

I 存储说明

产品存储过程中需要遮光，避免光照对产品的外观产生影响导致外观变色。

I 运输或转运说明

产品运输过程中需要遮光运输，避免光照对产品的外观产生影响导致外观变色。

产品在使用过程中，需要进行转运至洁净区内时，转移过程需要进行清洁灭菌，灭菌方式只能采用消毒剂擦拭灭菌，不能使用紫外辐照灭菌。

注意：在经过带有紫外辐照灭菌的传递窗时，需要主动关闭传递窗内的紫外灯。