

ExCell Bio

OptiVibro[®] CHO 无血清瞬转补料培养基 CA07 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-N071S

CA000-N072

CA000-N073

CA000-N074

CA000-N075

CA000-N076



产品概述

OptiVibro® CHO 无血清瞬转补料培养基 CA07，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 CA07	CA000-N071S	50 mL 液体	2-8 °C 遮光	< 10°C 遮光	12 个月
	CA000-N072	100 mL 液体			
	CA000-N073	1000 mL 液体			
OptiVibro® CHO 无血清瞬转 补料培养基 CA07（粉体）	CA000-N074	100 mL 粉体	2-8°C 干燥、避光	< 10°C 避光	24 个月
	CA000-N075	1 L 粉体			
	CA000-N076	10 L 粉体			

产品注意事项

1. 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。
2. 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。
3. 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 OptiVibro® CHO 无血清瞬转补料培养基 CA07（粉体）198.57g/L，缓慢加入水中，搅拌 60 分钟；
3. 缓慢加入 5N NaOH 溶液，调节 pH 至 8.50-8.60，搅拌 60 分钟；
4. 缓慢加入 6N HCl 溶液，调节 pH 至 7.00-7.10，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 6.80-7.50，渗透压应为 280-310 mOsm/kg（稀释 5 倍测定值）；
7. 0.22μm 滤膜除菌过滤后，2-8℃避光保存。

细胞培养条件

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 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 $4.0-6.0 \times 10^6/\text{mL}$ 时，即可进行传代，传代细胞密度为 $0.2-0.3 \times 10^6/\text{mL}$ 。

转染前细胞准备

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 $3.5 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 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）；

转染（以 20 mL / 125 mL 摇瓶体系为例）

3. 转染当天，将细胞用新鲜的 OptiVibro® CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 调整到 18 mL，细胞总量 $1.2 \times 10^8 \text{ cells}$ ，保证最终细胞转染密度为 $6.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ ；
4. 制备复合物：
本方案中，转染体系 20 mL，细胞密度 $6 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ ，DNA 浓度 1.5 μg/mL，DNA : 转染试剂=1 : 4，具体操作如下：

- 1) 转染试剂：将 120 μ L 转染试剂用 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 μ g DNA 用 OptiVibro[®] CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 稀释至 1 mL 体系；
- 3) 将转染试剂加入到 DNA 中，形成复合物，混匀，室温孵育 10 min；
5. 将制备好的 2 mL 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，可按照不同需求，进行补料，同时补糖至 22 g/L，降温至 33°C；

方案	适用场景	补料时间点	蛋白表达增强剂
A	标准补料（短周期，推荐）	D01 补料 5%	D01 添加：1ml/L
B	2 次补料（追求更高产量）	D01、D03，分别补料 5%	D03 添加：1ml/L
C	3 次补料（追求更高产量）	D01、D03、D06，分别补料 5%	D03 添加：1ml/L

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 与转染试剂比例），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	
转染试剂稀释液(mL)	1	5	10	
DNA(μ g)	30	150	300	DNA:转染试剂=1:4
转染试剂(μ L)	120	600	1200	
OptiVibro [®] CHO 无血清瞬转补料培养基 CA07(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：

产品名称	货号	规格
OptiViro® CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06	CE000-N052	1000 mL 液体
OptiViro® CHO 无血清瞬转补料培养基 CA07	CA000-N072	100 mL 液体
OptiViro® 葡萄糖溶液	M101382C	100 mL 液体
OptiViro® 蛋白表达增强剂	M101412C	1 mL 液体
OptiViro® 转染试剂	RF040-N012	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。