EIV12026

ExCell Bio

OptiVitro® 转染试剂说明书

本品仅用于科学研究，不适用于临床诊断和治疗

货 号	RF040-N011
	RF040-N012
	RF040-N013
	RF040-N014



产品概述

OptiVitro® 转染试剂是一款专为 CHO 悬浮细胞瞬时转染工艺设计的 DNA 递送试剂，覆盖 ExpiCHO-S 等主流 CHO 宿主细胞，可支持从研究级到中试规模的蛋白生产需求，广泛用于候选分子的早期筛选与评价、小规模蛋白制备、难表达蛋白（如膜蛋白、多亚基复合物、病毒样颗粒等）生产、上游工艺早期开发以及早期临床样品的快速制备等场景，尤其适用于需在短时间内获得高质量重组蛋白的研发与工艺开发工作。本品具有细胞毒性低、稳定性高、操作简捷、批次重复性良好等特点，建议搭配本公司 CHO 无血清瞬转培养基（CE06/CA06）使用，以实现最佳转染效率与蛋白表达水平。

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
OptiVitro® 转染试剂	RF040-N011	1mL 液体	2-8°C 遮光	< 25°C 遮光	12 个月
	RF040-N012	5mL 液体	2-8°C 遮光		
	RF040-N013	60mL 液体	2-8°C 遮光		
	RF040-N014	1000mL 液体	2-8°C 遮光		

产品注意事项

1. 本产品状态为混悬液，属于正常现象，可放心使用。
2. 本产品务必不要冻融，如冷冻，可能会发生析出、沉淀等现象，影响效能。

操作方法

细胞培养条件

建议摇床培养条件，温度：37℃；相对湿度：80%，CO_2 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 4.0-6.0×10^6/mL 时，即可进行传代，传代细胞密度为 0.2-0.3×10^6/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 OptiVitro® 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）；

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 OptiVitro® CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 调整到 18 mL，细胞总量 1.2×10^8 cells，保证最终细胞转染密度为 6.0×10^6 cells/mL；
4. 制备复合物：

   本方案中，转染体系 20 mL，细胞密度 6×10^6 cells/mL，DNA 浓度 1.5 μg /mL，DNA : 转染试剂=1 : 4，具体操作如下：

   1) 转染试剂：将 120 μL 转染试剂 用 OptiVitro® 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 OptiVitro® 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℃；

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（×10^6 cells）	120	600	1200	细胞密度 6×10^6 cells/mL
OptiVitro® 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(μg)	30	150	300	DNA:转染试剂=1:4
转染试剂(μL)	120	600	1200	
OptiVitro® 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：

产品名称	货号	规格
OptiVitro® CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06	CE000-N052	1000 mL 液体
OptiVitro® CHO 无血清瞬转补料培养基 CA06	CA000-N032	100 mL 液体
OptiVitro® 葡萄糖溶液	M101382C	100 mL 液体
OptiVitro® 蛋白表达增强剂	M101412C	1 mL 液体
OptiVitro® 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。