

# ExCell Bio

## OptiVibro<sup>®</sup> 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; OptiVibro® CHO 无血清瞬转补料培养基 CA06 与 OptiVibro® CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 (货号: CE000-N05# ) 联用可提高蛋白产量。

## 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	2- 8 °C 遮光	< 10°C 遮光	12个月
	CA000-N033	1000mL 液体	2- 8 °C 遮光	< 10°C 遮光	12个月
	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	2-8°C 干燥、避光	< 10°C 避光	24个月

## 产品特点、应用与使用限制

1. 产品存储过程中需要遮光, 避免日光灯或其他灯光照射, 在冰箱或仓库储存需要使用有色包装袋。
2. 产品运输过程中需要遮光运输, 避免日光灯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。

## | 培养条件

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

## | 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 60% 的注射用水；
- 2、称量干粉培养基 157.64g，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、加入注射用水并定容至 1L，继续搅拌 10 分钟；
- 6、取样测量 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 $\mu\text{m}$  滤膜除菌过滤后，2-8℃遮光保存。

## | 操作方法

### 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  $6 \times 10^6$  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  $\mu\text{g}$  /mL，DNA : PEI=1 : 4，

具体操作如下：

- (1) PEI Max: 将 120  $\mu\text{g}$  PEI Max 用 OptiVibro<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 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( $\times 10^6$ cells/mL)	120	600	1200	细胞密度 $6 \times 10^6$
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( $\mu$ g)	30	150	300	DNA:PEI=1:4
PEI Max( $\mu$ g)	120	600	1200	
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	1 L 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	1mL 液体
	M101413C	5mL 液体

## | 免责声明

1. 产品应按照说明书指导使用，实验者未按说明书指导操作，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。