

# ExCell Bio

## OptiVibro<sup>®</sup> 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



## I 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。

## I 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			

## I 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℃ 遮光保存。

### 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：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<sup>6</sup>/mL 时，即可进行传代，传代细胞密度为 0.2-0.3×10<sup>6</sup>/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 OptiVibro® CHO 无血清瞬转基础培养基 CE06 中，按照 3.5×10<sup>6</sup> 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 调整到 18 mL，细胞总量 1.2×10<sup>8</sup> cells，保证最终细胞转染密度为 6.0×10<sup>6</sup> 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<sup>6</sup> cells/mL，DNA 浓度 1.5 μg /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 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<sup>®</sup> 无血清瞬转补料培养基 CA07, 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: 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<sup>®</sup> CHO 无血清瞬转补料培养基 CA07 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<sup>®</sup> CHO 无血清瞬转补料培养基 CA07;

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 $6 \times 10^6$ cells/mL
OptiVibro <sup>®</sup> 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	
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	货号	规格
OptiVibro® 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
OptiVibro® 葡萄糖溶液	M101382C	100 mL 液体
OptiVibro® 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。