

Trans CHO Kit Pro（瞬时蛋白表达解决方案）

Version 3.0

简介

CHO 细胞瞬转表达方案中包含的基础培养基（Basal Medium）与补料培养基（Feed Medium）为完全化学成分限定，均不含血清、水解物及任何动物来源成分，适用于不同亚型的中国仓鼠卵巢细胞（CHO-K1 和 CHO-S 细胞）的高密度悬浮培养，能够实现重组蛋白和抗体的高水平表达。培养 7 天表达量约为 1000 mg/L，14 天表达量约为 2000 mg/L，部分可达 3000mg/L 以上。

产品名称	货号	培养基组分	用途	形式	规格
Trans CHO Kit Pro	33004	Trans CHO	基础培养基	液体	1000 mL
		ALLY Feed 100	补料培养基	液体	200 mL
		CHO Enhancer	表达增强剂	液体	5 mL
		Trans 1	转染试剂	液体	7.5 mL

组分说明

培养基组分	谷氨酰胺	葡萄糖	生长因子	适用细胞
Trans CHO	含	6 g/L	不含	CHO-K1、CHO-S
ALLY Feed 100	含	80 g/L	不含	CHO-K1、CHO-S
CHO Enhancer	不含	不含	不含	CHO-K1、CHO-S
Trans 1	不含	不含	不含	CHO-K1、CHO-S

储存和稳定性

培养基组分	有效期	储存条件
Trans CHO	一年	2-8℃避光保存，
ALLY Feed 100	一年	2-8℃避光储存，开封后建议在 3 个月内使用完
CHO Enhancer	一年	2-8℃避光保存
Trans 1	一年	-20℃保存 1 年，2-8℃有效期 2 个月可反复冻融 5 次

液体培养基若出现析出或者浑浊等现象，请停止使用。

使用-细胞传代

1. 以 0.3×10^6 cells/mL 的接种密度进行细胞接种，传代周期为 3 天。当待测细胞在新培养基中的倍增时间不低于对照培养基中的倍增时间时，判定细胞已完全适应新培养基环境，可进入后续实验流程；
2. 转染前一天将细胞密度调整到 2×10^6 cells/mL（非常重要）。

使用-转染

以 20 mL 培养体积为例（其他培养体积，相关试剂需按体积折算）：

1. 转染当天用新鲜培养基将细胞密度稀释至约 6×10^6 cells/mL（采用离心换液方法更佳）；
2. 将 50μg 质粒（即质粒总量约 2.5 μg/mL）滴加到培养基中；

3. 缓慢滴加 140 μ L Trans1 (即 7.0 μ L/mL) 至培养基中, 边滴加边混合, 使混合物均匀分散;
4. 将摇瓶放入摇床培养箱中, 培养时间记为 Day0, 转染结束。

使用-质粒

1. 双质粒, 轻链: 重链 = 1.1 : 1; 推荐分别为 1.3 μ g/mL 和 1.2 μ g/mL; Trans1: 7.0 μ L/mL;
2. 二轻一重三质粒: 0.6 : 0.6 : 1; 推荐分别为 0.7 μ g/mL、0.7 μ g/mL、1.2 μ g/mL, Trans1: 7.0 μ L/mL;
3. 一轻二重三质粒: 1.2 : 0.6 : 0.6; 推荐分别为 1.4 μ g/mL、0.7 μ g/mL、0.7 μ g/mL, Trans1: 7.0 μ L/mL;
4. 对于难表达的轻链或重链, 可适当提高含量, 推荐轻链或重链总使用量不低于 1.0 μ g/mL。

使用-补料培养

1. 转染后~24h 补加 0.3% CHO Enhancer (仅此一次) 和 9% ALLY Feed 100 及 6g/L 的葡萄糖, 并降温至 32 $^{\circ}$ C 培养;
2. 之后 Day5 和 Day9: 每 4 天补加一次 9% ALLY Feed 100 (若只培养 6-7 天, Day5 不需要补);
3. 活力 \leq 60%或按既定时间即可培养结束。

使用-温度及其他参数

1. 初始温度 37 $^{\circ}$ C, 转染后~24h 降温至 32 $^{\circ}$ C;
2. 摇床转速 120rpm, 振幅 50mm (重要参数, 转速低或振幅低会影响溶氧导致产酸, 降低表达量), 5-8% CO₂;
3. 摇瓶装液量推荐为 15-20%。

应用范围

健顺生物培养基可用于 CHO 细胞的冻存、复苏、传代培养、高密度强化培养工艺及灌流培养。其性能可支持细胞在培养过程中实现快速增殖, 维持高细胞活率, 显著提升目的蛋白的表达效果。

细胞冻存

1. 采用处于对数生长期, 细胞活率 $>$ 90%的细胞进行冻存;
2. 检测活细胞密度 ($\times 10^6$ cells/mL), 计算所需的冻存培养基体积, 使最终细胞密度达到 $1-1.5 \times 10^7$ cells/mL;

3. 准备好所需的冻存培养基: 90%基础培养基 + 10% DMSO, 储存于 2-8 $^{\circ}$ C 预冷直至使用;
4. 细胞液通过离心力 200 \times g, 离心 5min, 收获细胞重悬至预定体积的冻存培养基中得到细胞冻存悬液;
5. 将细胞冻存悬液分装至冻存管中, 立即转移至已经预冷的程序降温盒中, 进行程序降温后, 转入液氮罐中长期保存。

细胞复苏

1. 在 37 $^{\circ}$ C 水浴中快速解冻 ($<$ 1 min) 冻存管中的细胞;
2. 从液氮罐中移出细胞后, 在水浴锅中快速融化冷冻的细胞 (时间 $<$ 3 min);
3. 将冷冻管中的细胞液全部转移到含有 30 mL 预温过的基础培养基的 125 mL 摇瓶中;
4. 置于 37 $^{\circ}$ C、5-8% CO₂、转速 120rpm (轨道振幅 50mm) 的摇床培养箱中培养;
5. 细胞至少传代 2 次, 待细胞完全复苏且活率 $>$ 90%, 可按计划进行后续操作。

细胞传代

1. 将基础培养基在 37 $^{\circ}$ C 条件下预热 20 min;
2. 检测活细胞密度 ($\times 10^6$ cells/mL), 按接种密度为 0.3×10^6 cells/mL 的最终传代体积, 计算所需种子液量;
3. 无菌转移所需量的种子液, 添加至含所需体积的已预热的培养基的摇瓶中;
4. 摇瓶放入温度 37 $^{\circ}$ C、120 rpm (振幅 50mm, 摇瓶底面积增大时需减小摇床转速)、5-8% CO₂ 的摇床培养箱中进行培养;
5. 每 3 天用新鲜的培养基按上述步骤进行传代培养。