

Transient CHO ExPro Kit { 高效 CHO 瞬时表达试剂盒 }

货号: RPM0109K

规格: 1 Kit

◆ 产品信息

ABclonal CHO 瞬转表达基础培养基 (Basal Medium) 与补料培养基 (Feed Medium) 是完全化学成分限定 (Chemically Defined), 均不含血清、水解物及任何动物来源的成分, 适合于不同亚型中国仓鼠卵巢细胞的高密度悬浮培养, 可实现重组蛋白和抗体的高水平表达: 培养 7 天表达量在 500mg/L 左右, 14 天表达量 1000mg/L 左右, 部分可达 2g/L 以上。

◆ 运输保存条件

冰袋运输, 2°C-8°C避光保存, 保质期 1 年。

◆ 产品组成

货号	名称	规格	保存条件
RPM0109K-1	基础培养基	1000 mL	2~8°C
RPM0109K-2	补料培养基	200 mL	2~8°C
RPM0109K-3	转染试剂	7 mL	2~8°C
RPM0109K-4	表达增强剂	1 mL	2~8°C

该套装一套为 1 L 表达体系, 本产品具有高转染效率, 高表达量等优势, 适用于多种 CHO 细胞且无需孵育, 也可用于自动化工作站, 极大提高了工作效率。

◆ 推荐工艺指南

一、细胞扩培或适应性传代

- 1、检测活细胞密度, 按接种密度为 $\sim 0.2 \times 10^6$ cells/mL 的最终传代体积, 计算所需种子液量;
- 2、无菌转移所需量的种子液, 添加至含所需体积的已预热的基础培养基的摇瓶中;

- 3、将摇瓶放入温度~37.0°C, 120 rpm (振幅 50 mm) (摇瓶底面积增大, 需减小摇床转速), 5%~8% CO₂ 的细胞培养摇床中进行培养;
- 4、每 3 天用新鲜的培养基按上述步骤进行传代培养; 若细胞从其他培养基转移至该培养基中, 细胞倍增时间与原培养基一致, 方可进入下一步骤。

二、细胞转染

转染前一天准备 (Day -1) :

将细胞密度调整至~3.0×10⁶ cells/mL 左右 (重要操作), 转染当天细胞密度可达到 9E6 左右。

细胞转染 (Day0) : 以 20mL 转染体系为例

- 1、取细胞培养液并检测细胞密度, 当细胞密度超过 12×10⁶ cells/mL 时, 用新鲜培养基将细胞稀释至 9×10⁶ cells/mL (细胞密度 8~12×10⁶ cells/mL 时无需处理);
- 2、先向细胞培养液中其中添加质粒 (2.0 µg/mL 的轻链, 2.0 µg/mL 的重链, 轻重链比例 1: 1, 若重链做了改造/难表达, 可提高重链比例, 若轻链难表达, 则需要提高轻链比例; 质粒最低使用总量 2.2 µg/mL; 难表达的项目可将质粒的总量提高到 4~5 µg/mL), 摇匀;
- 3、再分别依次向细胞培养液中添加 **7.5µL/mL 的转染试剂**和 **1 µL/mL 的表达增强剂**, 摇匀。

质粒用量	转染试剂用量	表达增强剂用量
2.2-3.0 µg/mL	7.0 µL/mL	1.0 µL/mL
3.0-4.0 µg/mL	7.5 µL/mL	
4.0-6.0 µg/mL	8.0 µL/mL	

- 4、将转染结束的摇瓶放置于 37.0°C, 125 rpm (50 mm 振幅) (若 25mm 振幅可提高至 135 rpm), ~5% CO₂ 的细胞培养摇床中进行培养;

补料方案:

- 5、Day1 (培养 24h 左右): 根据转染细胞体积, 补加 8%的补料培养基。并降温至 32°C。

Day 4-13: 每 3 天补加一次 8%的补料培养基。(备注: 如不降温或降的温度 > 33°C, 则额外补加 2g/L 葡萄糖)。

备注: 如果只培养≤7 天, 可 Day1 补加 11%的补料培养基。并降温至 32°C, 然后 Day7 收获。

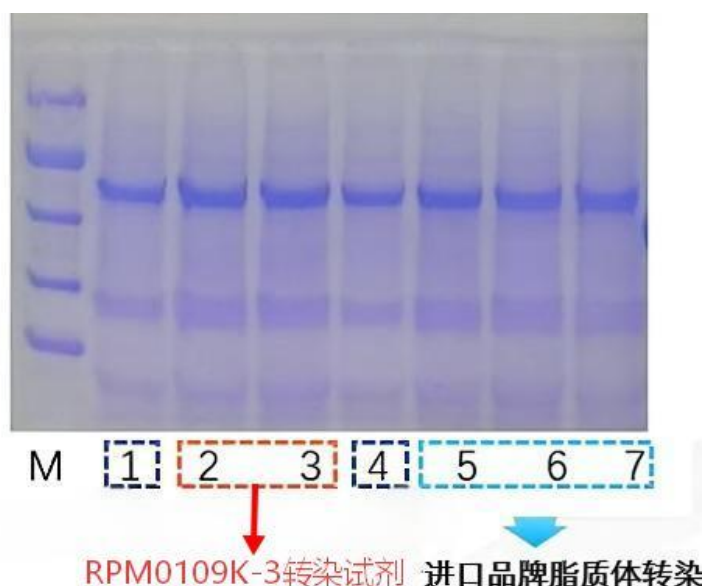
三、细胞冻存指南

- 1、准备处于对数生长期的细胞，且细胞活率在 95%以上；
- 2、检测活细胞密度，计算所需的冻存培养基体积，计算最终细胞密度 $1\sim1.5\times10^7$ cells/mL；
- 3、准备好所需的冻存培养基：90%基础培养基+10% DMSO，2~8℃冷藏保存；
- 4、设置离心力 $200\times g$ ，离心 5 min，用冻存培养基重新悬浮细胞至冻存体积；
- 5、将悬浮细胞等分保存至适宜规格的细胞冻存管中；
- 6、将细胞冻存管置于程序降温盒中，按照降温标准进行降温；
- 7、将细胞转移到液氮罐中保存。

四、细胞复苏指南

- 1、提前打开水浴锅，并设置温度至 $36.5^{\circ}\text{C}\sim37.0^{\circ}\text{C}$ ；
- 2、将细胞从液氮罐中移出后，快速在水浴锅中融化冷冻的细胞（< 3 min）；
- 3、将冷冻管中的细胞液全部转移到 125 mL 含有 30 mL 预温过的基础培养基的摇瓶中；
- 4、置于 $36.5\sim37.0^{\circ}\text{C}$ ，5~8% CO_2 ，转速 120 rpm（轨道振幅 50 mm）的摇床中培养；
- 5、细胞至少传代 2 次，待细胞完全复苏且活率在 90%以上，可按计划进行后续操作。

五、案例分享



六、特别说明

- 1、基础培养基使用前超过生产日期 6 个月，需补加 2~4mM Gln;
- 2、表达增强剂、转染试剂若 3 个月内不使用，建议保存至-20℃;
- 3、耗材推荐参数

耗材	培养体积 (mL)	50mm 振幅摇床转速 (rpm)	25mm 振幅摇床转速 (rpm)
125 摇瓶	15-20	120	130
250 摇瓶	35-45	120	130
500 摇瓶	80-100	120	130
1L 摇瓶	150-200	120	130
5L 摇瓶	1000-1200	100	120