

BalanCD Transfectory CHO

BalanCD Transfectory CHO是化学成分限定，不含动物源成分的培养基。为CHO细胞的瞬时转染和蛋白生产优化。培养基不含水解物和其它未明确的成分。此培养基即买即用，适用于悬浮培养应用。BalanCD Transfectory CHO 中不含 L-谷氨酰胺,抗生素和抗霉菌剂。

目录号#	产品名称	规格
91147	BalanCD Transfectory CHO	1L 液体
94129	BalanCD Transfectory CHO	10 L,100 L 干粉
91148	Transfectory Supplement	500mL液体
91150	Anti-Clumping Supplement	50mL液体

预期用途

仅供研究或进一步生产使用。

质量保证

所有的质量控制测试结果记载于特定批次的质量分析证书（CoA）上，可按您的需求提供。

储存指南和注意事项

液体培养基

使用无菌技术处理以避免污染。于2-8℃避光储存。超过指定的保质期后请勿使用。请勿使用任何呈现颗粒物或浑浊迹象的培养基。

粉末培养基

储存在2-8℃，避免空气中的水分。本产品具有吸湿性。打开容器前应先平衡至室温，使用后需重新密封。粉末应该是均匀分散的，如果结块请不要使用。在指定的有效期后请勿使用。避免多次打开和关闭容器。

培养基制备

使用粉末培养基制备溶液

1. 将1000 mL/L的WFI（货号# 9309或替代产品）加入至适当大小的容器中。
2. 向水中加入 23.41 g/L 的 BalanCD Transfectory CHO 粉末（货号# 94129）。搅拌大约10分钟。溶液会略显混浊。
3. 向溶液中加入2.2 g/L碳酸氢钠。再搅拌10分钟或直到溶液变清。
4. 测定pH值（预期范围7.0-7.4）和渗透压（预期范围280-310 mOsm/kg）。
5. 使用 0.2 μ m滤膜进行无菌过滤。
6. 储存在2-8°C（避光），最长可保存1年。

注意: 如果溶液发生沉淀或变色请勿使用。

7. 使用前补充20 mL/L的200 mM L-谷氨酰胺（货号# 9317）以达到4 mM的最终浓度。

营养补充剂

- 使用前补充20 mL/L的200 mM L-谷氨酰胺 (货号# 9317) 以达到4 mM的最终浓度。
- 可选用的补充剂
 - » 2mL/L 抗结团补充剂 (货号# 91150): 抗结团补充剂仅用于细胞库的维持和转染后的培养。在转染前，必须将细胞离心并重悬于不含抗结团剂的培养基中。
 - 注意:** 抗结团补充剂会完全阻止转染过程。
 - » 多聚甲醛 (Pluronic® or Kolliphor®): BalanCD Transfectory CHO 培养基含有多聚甲醛但可以通过额外补充0.05%-0.1%的多聚甲醛来减少培养中的剪切力。
 - » 转染补充剂 (货号# 91148): 在转染一天后，补充初始培养体积的10%，以促进细胞生长和蛋白产量。该补充剂不含动物源成分。

培养条件

- 培养基: 补充了4mM 谷氨酰胺 (货号# 9317)的BalanCD Transfectory CHO
- 培养容器: 带档板的聚碳酸酯摇瓶 (Corning # 431405-431407 或替代产品)
- 培养体积: 125mL摇瓶为30-40mL, 250mL摇瓶为60-80mL
- 接种密度: $2-3 \times 10^5$ cells/mL
- 培养箱设定: 37°C, 5% CO₂, 加湿, 140 rpm

细胞复苏与适应

1. 补充4mM的L-谷氨酰胺 (货号# 9317) 和2mL/L的抗结团补充剂 (货号#91150) 至 BalanCD Transfectory CHO培养基 (货号#91147) 。将适量 (30mL) 的补充后的培养基无菌转移至125 mL摇瓶中, 并在培养箱中预热。
2. 在37°C水浴中迅速解冻冻存管。
3. 将细胞转移至含10 mL预冷BalanCD Transfectory CHO培养基的离心管中。
4. 以200xg离心5分钟, 在不干扰细胞沉淀的情况下倾倒上清液。
5. 将细胞沉淀重悬于培养基, 并将细胞悬液转移到含有预热的BalanCD Transfectory CHO培养基 (步骤1) 的摇瓶中, 使初始细胞密度达到 3×10^5 cells/mL。培养3-4天。
6. 细胞可以直接适应BalanCD Transfectory CHO培养基。在BalanCD Transfectory CHO中至少传代三次后, 如果适应成功, 活细胞密度和活率在4天内应达到 1.5×10^6 cells/mL和90%以上。
7. 如果观察到严重的细胞结团, 将抗结团剂的用量增至2-4 mL/L。
8. 如果细胞生长较慢(培养4天小于 1.5×10^6 cells/mL)并且活率低于90%,使用以下方案继续传代。
 - » 提高接种密度至 $0.5-1 \times 10^6$ cells/mL。
 - » 每次传代时在新鲜的培养基中离心并重悬细胞。
 - » 以原培养基: BalanCD Transfectory CHO=1:1, 1:2, 1:4, 0:1的比例使细胞逐步适应。

传代

1. 补充4mM L-谷氨酰胺(货号 # 9317)至BalanCD Transfectory CHO 培养基(货号 #91147)。
2. 每2-4天对细胞库存进行一次传代，使细胞处于早期对数生长期，接种密度为 $2-3 \times 10^5$ cells/mL。活细胞密度和细胞活率应在4天内达到 2×10^6 cells/mL和90%以上。

注意: 强烈建议将细胞密度保持在 3×10^6 cells/mL以下，以达到更高的转染效率。

3. 在低细胞密度 ($<3 \times 10^6$ cells/mL) 下，可能不需要抗结团剂，但如果观察到细胞结团，可补充2mL/L的抗结团剂。

注意: 推荐浓度在500x和1000x之间 (1 mL/L – 5 mL/L) ，取决于结团的程度。抗结团剂将完全抑制转染。在转染前，必须离心并重悬细胞于不含抗结团剂的培养基中。

冻存

1. 准备所需体积的冻存培养基：90%的预冷BalanCD Transfectory CHO+10%DMSO。使用前储存于4°C。
2. 将适量细胞以200g离心5分钟，并倾倒上清液，此时注意不要干扰细胞沉淀。
3. 将细胞重悬于冻存培养基中，以达到 1×10^7 cells/mL或所需的细胞密度。
4. 将1mL或所需体积的细胞分装到无菌冻存管中。
5. 以每分钟-1°C的速度逐渐将冻存管的温度降低至-80°C。
6. 将冻存管储存于液氮气相中。

瞬时转染 – 示例方案和数据

以下PEI介导的瞬时转染方案可作为优化工作的一般指导原则。 由于最佳的转染参数可能因不同的培养应用而变化，因此我们强烈建议对转染参数进行优化。

BalanCD Transfectory CHO培养基同样可用于使用阳离子脂质体或电穿孔的转染方案。

示例中的培养条件

- 细胞系: CHO-3E7 (Canadian National Research Council L-11992)
 - 培养基: BalanCD Transfectory CHO + 4 mM L-谷氨酰胺
 - 培养容器: Corning 125 mL 聚碳酸酯摇瓶 (Corning #431143 或替代产品)
 - 工作体积: 30 mL
 - 接种密度: 2×10^5 cells/mL
 - 摇床速度: 140 rpm
 - 培养箱: 37°C, 5% CO₂, 加湿
 - 细胞计数: Beckman Coulter, ViCell® XR Cell Viability Analyzer
 - 蛋白浓度: Octet QKe system (fortéBIO)
 - PEI 转染
 - ◎ 转染VCD为 3×10^6 cells/mL
 - ◎ DNA: PEI=1:5
- √ DNA: 在最终培养体积中浓度为1 µg/mL , Hc:Lc:Akt:GFP=40:40:15:5
- √ PEI (PEIpro, PolyPlus #115-010或替代产品): 在最终培养体积中浓度为5 µg/mL
- 注意: 建议根据每个应用对DNA和PEI的比例进行优化。**
- 转染一天后
 - ◎ 将温度调整至 32°C
 - ◎ 转染补充剂: 10% 工作体积
 - ◎ 抗结团补充剂: 2 mL/L

瞬时转染 – 示例方案和数据

流程

1. 测定细胞库的VCD并计算所需体积。
2. 将适量的健康细胞以200g离心5分钟，并倾倒上清液，此时注意不要干扰细胞沉淀。
3. 将细胞沉淀重悬于培养基中，并将细胞悬液转移至装有27 mL BalanCD Transfectory CHO培养基（含4 mM L-谷氨酰胺）的摇瓶中，以达到 2×10^5 cells/mL的初始细胞密度。
4. 培养细胞3天。VCD 应当在 $2.5 - 3 \times 10^6$ cells/mL的范围中。
注意：为了达到最佳的转染效果，细胞应处于早期对数生长期，转染密度应根据应用进行优化。
5. 在另外的摇管中，制备3 mL的Polyplex（包括10 μ g/mL DNA和50 μ g/mL PEI）—在BalanCD Trans-fectory CHO培养基中加入适当体积的DNA和PEI。
6. 将Polyplex在室温下孵育 7 分钟后全部（3 mL）转移至含有 27 mL 培养物的摇瓶中。
7. 转染后一天, 调整温度至32°C，向含有30 mL培养物的摇瓶中加入60 μ L的抗结团剂(2 mL/L, 货号# 91150)。
8. 为了达到更高的细胞生长和蛋白产量，加入3 mL转染补充剂（培养体积的10%，货号# 91148）。
9. 在整个培养过程中监测并保持葡萄糖水平在2-8 g/L范围内。

示例数据

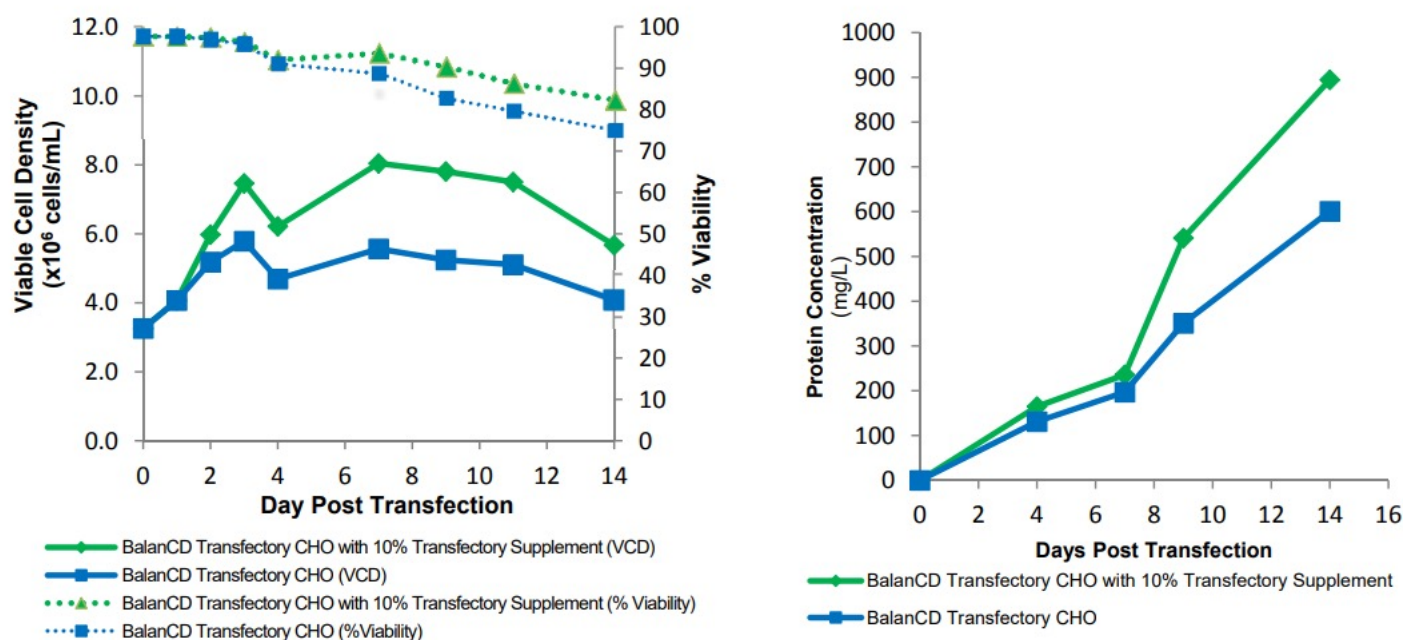


图1.摇瓶中PEI介导的瞬时转染--细胞生长和蛋白产量。

技术支持

联系我们

如果您需要更多信息或帮助，请联系我们的客服中心：

- Email: biopharma@fujifilm.com
- 电话：021-5010 6000 转生命科学事业部

网络资源

访问我们的网站<https://fujifilmbiosciences.fujifilm.com/us> 获取技术资源和信息：

- 安全数据表 (SDS)
- 鉴定证书
- 常见问题
- 产品文献
- 按国家分列的详细工作地和联系方式清单

富士胶片(中国)投资有限公司

公司地址：上海市浦东新区平家桥路100弄6号7号楼601单元

网址：<https://fujifilmbiosciences.fujifilm.com/us>

销售咨询：021-5010 6000 转生命科学事业部