

## CD 293 无血清培养基

Cat.No	产品名称	规格	储存条件	保质期
IMC-021-M	CD 293 无血清培养基	500mL	4°C	12 个月

### 产品简介

CD 293 无血清培养基是用于 HEK293 细胞无血清悬浮培养和目标分子表达的培养基。产品中含有 4mM 谷氨酰胺、6g/L 葡萄糖、1.5 g/L PF68 等有利于 HEK 细胞无血清生长和表达的组分。产品不含任何动物源成分、蛋白、水解物、酚红和 EDTA，有利于建立稳定的 HEK 细胞无血清表达系统。CD 293 无血清培养基是一种化学成分界定的培养基，用于支持多种 HEK 细胞无血清高密度生长以及高效转染表达，在转染后的表达阶段同时配套使用 CD 293 Feed，可以应用于重组蛋白的表达以及腺相关病毒（Adeno-Associated Virus, AAV）、慢病毒（Lentivirus, LV）、腺病毒（Adenovirus, AdV）等病毒载体的包装和扩增。

### 产品参数

外观	澄清液体
渗透压	265~340mOsm/kg
无菌检测	无菌
内毒素	<3 EU/ml
PH	6.9-7.4
适用范围	HEK293 (293F、293E、293H、293FT、293S) 悬浮细胞

### 产品特点

专用于 HEK293 无血清的悬浮培养与高效的转染表达

无动物源组分，无血清，无抗生素

转染前后无需更换培养基

质控严格，效果稳定

### 使用说明

#### 一、细胞复苏

1. 在 37°C 水浴中快速解冻 (<1 分钟) 冻存管中的细胞。

2. 将全部细胞液转移至含有 30 mL 预热的 CD 293 无血清培养基的 50 mL 无菌离心管中，233 ×g (约 1000 rpm) 离心 5 分钟，弃上清，使用 20 mL CD 293 无血清培养基重悬，此时细胞密度应为  $0.4 - 0.6 \times 10^6$  cells/mL。
3. 参照“培养条件”培养细胞。
4. 72 ± 4 小时，进行细胞的传代扩增，传代方法参照“细胞传代与扩增”步骤。

## 二、细胞传代与扩增

1. 复苏后 72 ± 4 小时细胞处于对数生长中期，此时检测活细胞密度 ( $\times 10^6$  cells/mL) 及细胞活率(%), 进行细胞传代。
2. 当活细胞密度  $\geq 2.0 \times 10^6$  cells/mL, 活率 > 90%, 按照  $0.8 - 1.2 \times 10^6$  cells/mL 的接种密度进行传代, 参照“培养条件”进行培养。
3. 瞬时转染前, 细胞需要在 CD 293 无血清培养基中至少进行 3 次传代。

## 三、细胞适应性传代

### 直接适应

1. 将培养至对数生长中期、细胞活率 > 90% 的细胞从其他培养基中直接接种到 CD 293 无血清培养基中, 接种密度为  $0.8 - 1.2 \times 10^6$  cells/mL, 参照“培养条件”进行培养。
2. 建议首次转移后每天检测活细胞密度 ( $\times 10^6$  cells/mL) 及细胞活率 (%)。
3. 若细胞密度在接种后第 3 天达到  $4 \times 10^6$  cells/mL 左右, 活率 > 90%, 可视为细胞已成功适应 CD 293 无血清培养基。
4. 细胞适应后, 至少传代 3 - 5 次, 待细胞生长稳定后再开展其它应用。

### 梯度适应

1. 如果细胞在直接驯化时状态欠佳, 建议采用梯度驯化。
2. 按照  $0.8 - 1.2 \times 10^6$  cells/mL 的密度接种, 将细胞逐步适应至原培养基与 CD 293 无血清培养基以不同比例 (90:10、75:25、50:50、25:75、0:100) 混合的培养基中。
3. 每种混合培养基进行传代时, 如果细胞密度达到  $3 \times 10^6$  cells/mL 左右, 活率 > 90%, 方可进行下一个梯度的驯化。

一般需要传代 2 - 3 次, 可根据细胞生长状态进行调整。

4. 在 100% 使用 CD 293 无血清培养基接种第 3 天后, 若细胞密度稳定在  $4 \times 10^6$  cells/mL 左右, 活率 > 90%, 可视为细胞已成功适应 CD 293 无血清培养基。

5. 细胞适应后，至少传代 3 - 5 次，待细胞生长稳定后再开展其它应用。

#### 四、细胞冻存

建议采用处于对数生长期，细胞活率>90%细胞进行冻存。

1. 以 90% CD 293 无血清培养基与 10% DMSO 混合制备冻存培养基，储存于 2-8℃ 预冷直至使用。
2. 检测活细胞密度 ( $\times 10^6$  cells/mL)，计算出冻存培养基所需的体积，使得最终冻存体积为每支 1mL，冻存密度为  $10.0 \times 10^6$  cells/mL。
3. 细胞液通过  $233 \times g$  (约 1000 rpm) 离心 5 分钟，弃上清，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。
4. 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，转入液氮罐长期保存。

#### 五、培养条件

培养方式：悬浮

培养容器：TPP 管/摇瓶

摇床转速：TPP 管培养，轨道直径为 50 mm 的摇床，建议 200 rpm；

摇瓶培养，轨道直径为 25 mm 的摇床，建议 125 - 150 rpm；

摇瓶培养，轨道直径为 50 mm 的摇床，建议 90 - 120 rpm。

培养温度：37℃

CO<sub>2</sub> 浓度：5%

相对湿度：80% RH

	基础培养基	补料	补料时间点	补料量	培养条件	备注
瞬转蛋白表达工艺	CD 293	CD 293 Feed	质粒转染后 24h	7%	37℃、 5% CO <sub>2</sub> 、 80% RH	建议质粒转染后 96h 额外加 2g/L 葡萄糖：
AAV、AdV 和	CD 293	CD 293 Feed	质粒转染后 24h	5%		
LV 生产工艺	CD 293	CD 293 Feed	质粒转染后 24h	8%		

