

产品名称:	QuaCell® HEK293 CD Medium
货号:	A22001
规格:	10L, 100L, 定制
形式:	干粉
储存温度:	2°C ~ 8°C
有效期:	24个月 (有效期见产品包装)

简介

QuaCell® HEK293 CD Medium 是一款针对人类胚胎肾细胞 293(HEK293)和相关细胞株长期培养所研发的无血清、无动物成分、化学限定培养基，适用于悬浮培养 HEK293 细胞以表达病毒、抗体及蛋白产物。只需简单的驯化甚至不用驯化，就可从含血清培养基或其他无血清培养基中，直接传代接种至 QuaCell® HEK293 CD Medium 中。此培养基配方中不含次黄嘌呤、胸苷及 L-谷氨酰胺。

组分

L-谷氨酰胺	不含, 建议添加 4 mM
葡萄糖	6.0 g/L
次黄嘌呤&胸苷	不含
酚红	不含
水解产物	不含

产品用途

在处理或补充培养基时使用无菌技术。本产品用于研究或进一步制造使用。

警告: 不用于人类或动物治疗用途。超出规定范围的使用可能会触犯当地法律。

安全信息

阅读物料安全数据表 (MSDS) 并依据相关的安全操作规范，佩戴适当的护目镜，洁净服，口罩和手套等。

用前准备

• 配制方法

- 将终体积 90% 的注射用水加入到合适干净的容器中，调节水温至 25°C~35°C;
- 缓慢加入 17.46 g /L 的 QuaCell® HEK293 CD 干粉培养基，搅拌混合 10 分钟;
- 缓慢加入 5 mol/L NaOH 调整 pH 到 9.05 ± 0.10 ，搅拌 30 分钟;
- 缓慢加入 5 mol/L HCl 调整 pH 到 7.00 ± 0.10 ，搅拌 10 分钟;
- 缓慢加入 1.90 g /L 的 NaHCO_3 ，搅拌 10 分钟直到溶解;

- 加入 2.70 g /L 的 NaCl，搅拌 10 分钟直到溶解;
- 使用 5 mol/L 的 HCl 或者 NaOH 将 pH 最终调整到 7.00 ± 0.10 ;
- 加入注射用水定容至最终体积，搅拌均匀，测量 pH 6.8~7.4, 275~325 mOsm/kg;
- 通过 0.20 μm 孔径滤膜正压过滤除菌。

注意:

- 注意控制初始水温;
- 本品为二氧化碳/碳酸氢钠缓冲体系，如在配液过程中搅拌时间过长或在生物反应器未进行 pH 控制的条件下进行长时间的通气，会导致出现 pH 值缓慢上升的情况;
- 以上配液参数 (如搅拌时间等) 供研发小规模配液参考。大规模生产配液时，请根据配制容器的搅拌能力设置适当的配液参数，以便培养基干粉充分溶解。

- QuaCell® HEK293 CD Medium 的使用需要无菌;
- 产品不含 L-谷氨酰胺，建议在使用前添加 4 mM;
- 不推荐使用抗生素;
- 开封后未用完的培养基应进行分装，使用封口膜封口，在 2~8°C 避光干燥保存。

培养条件

培养基: QuaCell® HEK293 CD

细胞系: HEK293 cells

培养类型: 悬浮

培养容器: 摆瓶/TPP/反应器

温度范围: 37°C $\pm 0.5^\circ\text{C}$

培养箱气体要求: 5% ~ 8% CO_2 的加湿培养

注意: 确保适当的气体交换和最小化的曝光培养。

细胞复苏

- 细胞从液氮罐中取出，迅速在 37°C 水浴中快速解冻至细胞融化，过程约 1~2 分钟;
- 将细胞液转移至 5 mL 预热的 QuaCell® HEK293 CD Medium (以下简称 HEK293 CD)，吹打均匀；1000 rpm 离心 5 分钟，丢弃上清液；使用 5 mL HEK293

- CD 重悬；
- 使用自动细胞计数仪或其它计数仪器进行细胞计数，根据需要的细胞密度吸取细胞液至 125 mL 摆瓶，加入适量 HEK293 CD，使细胞达到所需复苏密度；建议复苏密度为 $(3 \sim 5) \times 10^5$ cells/mL；
 - 在含有 5% ~ 8% CO₂, 37°C 的培养箱或摇床进行培养；
 - 细胞复苏后培养 2 ~ 5 天处于对数生长中期时传代。在进行其它实验之前，复苏的细胞至少应进行三次传代

传代培养

- 使用自动细胞计数仪或其它计数仪器进行细胞计数，根据需要的接种密度计算所需细胞原液体积，建议接种密度为 $(3 \sim 5) \times 10^5$ cells/mL；
- 将所需量细胞原液加入到含有 HEK293 CD 的摇瓶中，使细胞达到所需接种密度；
- 继续置于 5% ~ 8% CO₂, 37°C 的培养摇床中培养，通常 2 ~ 3 天后可进行下一次传代。

细胞驯化

QuaCell® HEK293 CD Medium 通常在不经过驯化的情况下都能够支持 HEK293 细胞快速生长和表达。少数特殊细胞需要经过一个简单的顺序驯化过程来适应。从常规血清培养体系或其他无血清培养基向 QuaCell® HEK293 CD 驯化之前，务必确保细胞处于对数生长中期且活率 > 90%。

直接接种

将悬浮培养细胞转移到 HEK293 CD 中，如下：

- 1000 rpm 离心细胞悬浮液 5 分钟。吸出并丢弃上清液；
- 以 $(3 \sim 5) \times 10^5$ cells/mL 的活细胞密度将细胞沉淀重新悬于预热好的完全 HEK293 CD 中并转移至合适的培养容器；
- 放回摇床并监测细胞生长。

注意：如果使用直接接种方法观察到细胞生长不理想，则使用顺序驯化方法。

顺序驯化

按照以下程序进行细胞悬浮培养的步骤：

- 适应过程中使用 $(4 \sim 5) \times 10^5$ cells/mL 的接种密度；
- 逐步调整 HEK293 CD 与原始培养基的细胞培养比例 (25:75, 50:50, 75:25, 90:10, 然后是 100% HEK293 CD)。每个步骤视情况可多次传代；

- 在 100% HEK293 CD 中几次传代后，活细胞计数应超过 $(1 \sim 2) \times 10^6$ cells/mL，培养 4 ~ 6 天内存活率 $\geq 85\%$ 。在这个阶段，培养被认为适应于 HEK293 CD。在驯化的最后阶段，接种密度可以降低到 $(2 \sim 3) \times 10^5$ cells/mL。

冷冻保存

- 准备好所需数量的细胞，且细胞状态较好；
- 使用自动细胞计数仪或其它计数仪器进行细胞计数，根据最终冻存密度计算出冷冻保存培养基所需的体积，建议冻存密度为 $> 1 \times 10^7$ cells/mL；
- 通过 1000 rpm 离心 5 分钟收获细胞，丢弃上清液，用适量冷冻保存培养基重悬细胞至冻存密度；
- 根据规格立即将细胞悬浮液的分装到冻存管中；
- 按照标准程序，在自动或手动控制速率冷冻设备中实现冷冻保存。将冷冻细胞转移到液氮或 -130°C 以下保存；

注意：在液氮或 -130°C 以下储存 24 小时后，取出一只冷冻保存细胞进行复苏，检查活率及其它指标。请参阅“细胞复苏”。

培养建议

- 进行预实验，以 $(3 \sim 5) \times 10^5$ cells/mL 的密度将细胞接种到 HEK293 CD 中，进行分批培养。若细胞生长速度较快，在第三天后测定葡萄糖浓度，适量补给葡萄糖。绘制该株细胞在培养基中的生长曲线。

相关产品

货号	品名
A22001	QuaCell® HEK293 CD Medium
A21501	Wayen293® Transfection Medium

标签图例

STERILE	A	过滤除菌	有效期至	储存温度
LOT			干燥保存	避光保存
批号		GMP	仅供研究	供 GMP 制造
RUO				不干胶便签