

|       |                           |
|-------|---------------------------|
| 产品名称: | QuaCell® HEK293 CD Medium |
| 货号:   | A21001                    |
| 规格:   | 1000mL                    |
| 形式:   | 液体                        |
| 储存温度: | 2°C ~ 8°C                 |
| 有效期:  | 12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            |
| 碳酸氢钠    | 1.9 g/L       |
| 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

- 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: 摇瓶/TPP/反应器

温度范围: 37°C±0.5°C

培养箱气体要求: 5%~8% CO<sub>2</sub> 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 摇瓶, 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% CO<sub>2</sub>, 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% CO<sub>2</sub>, 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%。

胞在培养基中的生长曲线。

## 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  $-130^\circ\text{C}$  以下保存；

注意：在液氮或  $-130^\circ\text{C}$  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，在第三天测定葡萄糖浓度，适量补给葡萄糖。绘制该株细

## 相关产品

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

## 标签图例

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