

产品	目录号	产品规格	储存条件	保质期
SP05001-1Kit SPE-CD Trans293GRO 培养基 (非GMP)	SP05001-1Kit	1Kit	2℃~8℃；避光	12个月
SP05002-1Kit SPE-CD Trans293GRO 培养基 (GMP)	SP05002-1Kit	1Kit	2℃~8℃；避光	12个月

SPE-CD Trans293GRO Medium培养基

操作手册

产品说明：

SPE-CD Trans293GRO Medium培养基是一种化学定义的培养基，不含任何动物源成分，不包含水解物、蛋白质、生长因子或未知成分。它可用于实现和维持HEK293细胞系的高密度悬浮培养，并实现高效的瞬时转染。这种液体培养基含有L-谷氨酰胺。

SPE-293 ProFeed是一种优质补料，完全不含任何动物源成分，而是采用了植物源水解物。当它与SPE-CD Trans293 Medium基础培养基结合使用，在瞬时转染HEK293细胞过程中，能够实现更高的转染效率。适用于科研和细胞培养的大规模生物制品生产，但不能直接用于人体或作为药物使用。

产品指标：

pH值	7.5~8.0
渗透压 (mOsm/kg)	1050~1250
内毒素 (EU/ml)	<10
无菌检查	无菌

培养条件：

温度：36~38℃，湿度80%，5~8%CO₂
摇床设置：转速115~125rpm（振幅50mm）

补料添加方案：

补料	补料添加方案
SPE-293 ProFeed	转染后24h/48h加入5%SPE-293 ProFeed

产品使用

注意事项：用于制造、加工或重新包装。

重要信息

SPE-CD 293培养基不推荐用于贴壁培养。

安全信息

阅读安全数据表(SDSs)并按照操作说明操作。佩戴适当的防护眼镜、衣物和手套。

培养条件：

培养基：SPE-CD Trans293GRO Medium培养基
细胞系：HEK 293细胞

培养类型：悬浮培养

容器：摇瓶，旋转瓶或生物反应器

温度范围：36°C至38°C

培养环境：空气中CO₂含量为8%的潮湿环境中，细胞在较低CO₂(即5% CO₂)水平下的生长速度可能会降低。确保适当的气体交换，培养过程中尽量减少暴露在光线下

复苏

1. 在37°C水浴中快速解冻(<1分钟)冻存的细胞(7.5×10^6 个细胞)。
2. 将冻存管中的全部内容物转移到一个无菌的一次性125mL Erlenmeyer摇瓶中，其中含有18mL已预热的SPE-CD Trans293GRO Medium培养基。
3. 在以125转/分转速旋转的轨道激振器平台上，在37°C、8% CO₂ 的潮湿环境中孵育。拧松瓶盖，以便气体交换。
4. 细胞复苏后3-5天传代培养。

传代

1. 使用自动细胞计数仪测定活细胞密度。也可以使用其他方法(如库尔特计数法或血细胞计数法)。
2. 当活细胞密度达到 1.5×10^6 个细胞/mL时，用预热的SPE-CD Trans293GRO Medium将细胞稀释至 $2 \sim 3 \times 10^5$ 个细胞/mL。然后将细胞悬液按最大20ml/瓶，分配到无菌125 mL Erlenmeyer摇瓶中。
3. 将摇瓶放在旋转摇床(125-130转/分)上，在37°C、8% CO₂ 的潮湿环境中孵育。

继续将HEK 293细胞从贴壁培养转为悬浮培养

1. 从摇瓶中抽吸培养基，通过将摇瓶表面猛拍在手几次，使HEK 293细胞从摇瓶表面脱落。注意:不要使用胰蛋白酶或其他蛋白水解剂去除细胞。
2. 将脱落的细胞重悬于5ml的SPE-CD Trans293GRO Medium中。注：在SPE-CD Trans293GRO Medium中培养的HEK 293细胞可生长为2-10个细胞簇。
3. 在传代或计数前，用小孔径移液管搅拌或旋转，将团块分散成单细胞悬浮液。最佳旋涡条件必须根据速度和持续时间与生存能力来确定。
4. 使用自动细胞计数仪测定活细胞密度。也可以使用其他方法(如库尔特计数法或血细胞计数法)。
5. 在预热的SPE-CD Trans293GRO Medium培养基中稀释细胞至活细胞密度为 1×10^6 个细胞/mL。
6. 将摇瓶放在旋转摇床(125-130转/分)上，在37°C、8% CO₂ 的潮湿环境中孵育。
7. 每天监测活细胞密度。当活细胞密度达到 1.5×10^6 个细胞/mL时，用预热培养基稀释至 $2.5 \sim 3.0 \times 10^5$ 个细胞/mL。当活细胞密度达到 1×10^6 细胞/mL时，继续稀释至 $2.5 \sim 3.0 \times 10^5$ 细胞/mL。在SPE-CD 293中经过几代持续生长和生存能力的培养，直到适应。在适应无血清悬浮培养后，可以在旋转瓶或生物反应器中扩大培养。

注意：一些旋转设备会发出大量的热量，而水套孵化器通常不能很容易地平衡温度变化。温度 $\geq 40^\circ\text{C}$ 对HEK 293细胞是致命的。

低温贮藏

1. 准备所需数量的细胞，在对数生长中期收获，存活率>90%。保留条件培养基，制备冻存液。
2. 测定活细胞密度，计算所需冻存液体积，最终细胞密度为 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细胞/mL。
3. 准备所需体积的92.5% SPE-CD Trans293GRO Medium培养基（新鲜培养基与条件培养基的50:50比例）+ 7.5% DMSO制备成冻存液，4°C保存至使用。注：在使用当天准备冻存液。
4. 于100×g离心5-10分钟，收获细胞。加入预计体积的冻存液重悬细胞。

5. 根据制造商的规格，立即将等份细胞悬液分配到冻存瓶中（即在2ml的冻存瓶中加入1ml细胞悬液）。
6. 按照标准程序(每分钟降低1°C)在自动或手动控制速率的冷冻装置中实现低温保存。
7. 将冷冻细胞转移到液氮中(建议在- 200°C至- 125°C的气相储存)。