

CD 293 系列

Version 3.1

CD 293 系列是一种化学成分界定的培养基平台，用于支持多种 HEK293 细胞高密度生长以及高效转染表达，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。

产品名称	应用范围	产品编码	产品形式	产品规格
CD 293 06	基础培养基（重组蛋白、瞬转、病毒载体的生产）	11207-21018	液体	500 mL、1000 mL
ALLY Feed 100	补料（搭配基础培养基使用）	99182-24005	液体	500 mL、1000 mL

组分信息

所有培养基均不含任何动物源成分、蛋白、水解物、酚红和 EDTA。基础培养基 CD 293 01、02、03 和 06 中含有 4 mM 谷氨酰胺、6 g/L 葡萄糖、1.5 g/L PF68；ALLY Feed 100 中含有谷氨酰胺和葡萄糖。

安全警示

请阅读物料安全数据表（MSDS）和本操作说明，穿戴合适的护目镜、洁净服和手套等。

用途

本产品仅用于科学研究或进一步生产。

储存和稳定性

液体培养基

液体培养基应在 2-8°C 避光保存，有效期为 12 个月，补加其他添加剂可能会影响储存条件和保质期。若出现析出或者浑浊等现象，请停止使用。CD 293 01、02、03 超过 3 个月使用时推荐添加 4mM 谷氨酰胺。CD 293 06 超过 3 个月使用时无需添加谷氨酰胺。

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°C

CO₂ 浓度：5%

相对湿度：80% RH

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 系列培养基的 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 系列培养基重悬, 此时细胞密度应为 0.4-0.6 × 10⁶ 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。

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 (× 10⁶ cells/mL) 及细胞活率 (%), 进行细胞传代。
2. 当活细胞密度 ≥ 2.0 × 10⁶ cells/mL, 活率 > 90%, 按照 0.8-1.2 × 10⁶ 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 系列培养基中至少进行 3 次传代。

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 系列培养基中, 接种密度为 0.8-1.2 × 10⁶ 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 (× 10⁶ cells/mL) 及细胞活率 (%).
3. 若细胞密度在接种后第 3 天达到 4 × 10⁶ cells/mL 左右, 活率 > 90%, 可视为细胞已成功适应 CD 293 系列培养基。
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 × 10⁶ cells/mL 的密度接种, 将细胞逐步适应至原培养基与 CD 293 系列培养基以不同比例 (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 × 10⁶ 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 系列培养基接种第 3 天后, 若细胞密度稳定在 4 × 10⁶ cells/mL 左右, 活率 > 90%, 可视为细胞已成功适应 CD 293 系列培养基。
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。

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 系列培养基与 10% DMSO 混合制备冻存培养基，储存于 2-8°C 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 10.0×10^6 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。

AAV、AdV 和 LV 生产工艺

方案	基础培养基	补料	补料时间点	补料量	培养条件
T1	CD 293 06	ALLY Feed 100	质粒转染后 24h	5%	37°C、5% CO ₂ 、 80% RH
T2	CD 293 06	ALLY Feed 100	质粒转染后 24h	8%	