

货号	名称	规格	应用
SP05001-0500	SPE-CD Trans 293 GRO 培养基 (非 GMP)	500 mL	细胞培养

SPE-CD Trans 293 GRO 培养基 (非GMP)

产品说明书

产品规格：500 mL

产品货号：SP05001-0500

1. 产品描述：

SPE-CD Trans 293 GRO 培养基是一种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的培养基。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。

2. 产品参数：

浓度	1X
pH	7.0-7.4
渗透压	280-320 mosm/kg
内毒素	合格
保存条件	2-8 °C，一年



3. 培养条件:

培养基: SPE-CD Trans293GRO 培养基 (非GMP)

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~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。

摇床设置: 转速115~125rpm(振幅50mm)

4. 使用方法:

细胞复苏

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125 mL摇瓶中, 其中含有20 mL已预热的SPE-CD Trans293GRO 培养基。
3. 在以125 r/min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。

细胞传代

- 1.离心收集细胞 (100×g, 5~10分钟) ;
- 2.使用少量预热培养基重悬细胞, 进行细胞计数, 确定细胞活率, 计算活细胞密度;
- 3.在无菌的培养容器(125 mL锥形瓶)中加入合适体积的预热的完全培养基;然后立即以 $3 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ cells/mL 的最终活细胞密度, 把细胞接种入锥形瓶中;
- 4.将锥形瓶放到摇床中, 设置转速120~140 rpm, 进行细胞培养;



5. 当活细胞密度达到 2×10^6 cells/mL时, 可以进行传代;

细胞驯化

1. 从摇瓶中抽吸培养基, 通过将摇瓶表面猛拍在手几次, 使HEK293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5 mL的SPE-CD Trans 293 GRO培养基中。

注: 在SPE-CD Trans 293 GRO培养基中培养的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。

5. 在预热的SPE-CD Trans 293 GRO 培养基中稀释细胞至活细胞密度为 1×10^6 cells/mL。

6. 将摇瓶放在旋转摇床(125-130 r/min)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 cells/mL时, 用预热培养基稀释至 $2.5-3.0 \times 10^5$ cells/mL。当活细胞密度达到 1×10^6 cells/mL时, 继续稀释至 $2.5-3.0 \times 10^5$ cells/mL。在SPE-CD Trans293 GRO 培养基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 ≥ 40 °C对HEK 293细胞是有影响的。

细胞冻存

1. 准备所需数量的细胞, 在对数生长中期收获, 存活率 $>90\%$ 。

2. 测定活细胞密度, 计算所需冻存液体积, 最终细胞密度为 $0.5-1 \times 10^7$ cells/mL。

3. 准备所需体积的92.5% SPE-CD Trans 293 GRO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 $100 \times g$ 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. 注意事项

1. 在操作过程中，请确保培养细胞的无菌条件，以防止细胞的污染。
2. 为保持本产品的最佳使用效果，不宜将其长时间放置于室温或较高的温度环境中。
3. 遵循实验室安全操作规程，使用个人防护设备，并在必要时采取相应的生物安全级别。

免责声明：本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

