

SPE-CD Trans293GRO Medium 培养基

产品说明书

一、产品描述

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。

二、产品信息

目录号	产品名称	规格
SP05001-0500	293 培养基 + 补料	500 mL

三、试剂指南

储存条件为 2°C~8°C；避光，有效期/保质期为 12 个月。

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



四、操作流程

（一）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：36~38℃

摇床设置：转速 115~125rpm（振幅 50mm）

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。

（二）复苏

1. 在 37℃ 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℃、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。

（三）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



2~3×10⁵ 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。
4. 继续将 HEK 293 细胞从贴壁培养转为悬浮培养。
5. 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。
6. 将脱落的细胞重悬于 5 mL 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。
7. 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。
8. 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)。
9. 在预热的 SPE-CD Trans293GRO Medium 培养基中稀释细胞至活细胞密度为 1×10⁶ 个细胞/mL。
10. 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。
11. 每天监测活细胞密度。当活细胞密度达到 1.5×10⁶ 个细胞/mL 时，用预热培养基稀释至 2.5-3.0×10⁵ 个细胞/mL。当活细胞密度达到 1×10⁶ 细胞/mL 时，继续稀释至 2.5-3.0×10⁵ 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。

NOTE：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 细胞是致命的。

(四) 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 0.5-1×10⁷ 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)。

四、附加说明

pH 值	7.5~8.0
渗透压 (mOsm/kg)	1050~1250
内毒素 (EU/ml)	<1.0
无菌检查	无菌

五、免责声明与客户服务

本产品应按照产品说明书所载明的适用范围、操作方法及储存条件使用。由于不同实验体系、样本来源及操作条件可能存在差异, 用户在使用前应结合自身实验目的对产品适用性进行评估与验证。对于未按说明书要求使用、超出产品适用范围使用, 或因操作条件变更而导致的实验结果差异或相关影响, 本公司不承担相应责任。如需技术支持或更多产品信息, 请联系 SPERIKON。

