

BalanCD HEK293 Perfusion A

货号 #	产品	形式	标准规格*
91184	BalanCD HEK293 Perfusion A	液体	1 L 瓶装, 20 L 袋装
94155	BalanCD HEK293 Perfusion A	粉末	10 L

*其他包装尺寸可根据要求提供。

预期用途

仅供研究或进一步生产使用。

产品描述

BalanCD HEK293 Perfusion A是一种化学成分限定的、无动物源成分的人胚胎肾293（HEK293）细胞生长培养基，专为灌流工艺中细胞生长和生产病毒载体设计。为延长保质期，本品不添加L-谷氨酰胺，建议使用时按4-8mM（20-40mL/L）的浓度进行添加。在灌流培养过程中监测葡萄糖和谷氨酰胺，可能需要额外补充。BalanCD HEK293 Perfusion A专为HEK293细胞系设计，可在灌流速率低至25pL/cell/day的条件下，于灌流生物反应器中有效维持细胞生长与产物表达，并能显著抑制乳酸和氨等有害代谢副产物的积累。培养基不含抗生素、抗真菌剂、蛋白水解物及其他任何未明确成分。本产品可直接用于悬浮培养，不含水解物、L-谷氨酰胺、抗生素、抗真菌剂及其他未明确组分。它可以在转染后与抗结团添加剂（货号#91150）配合使用，以尽量减少细胞聚集。

质量保证

所有质量控制测试结果均记录于批号对应的分析证书中，您可通过网站 fujifilmbiosciences.fujifilm.com 获取或根据需求申请提供。

储存说明及稳定性

液体培养基

采用无菌技术进行处理，以避免污染。请在 2-8°C 条件下避光储存，并避免长时间暴露于光照或高温环境。在未开封且正确储存的条件下，本品有效期为 12 个月。超过标注的有效期，请勿使用。产品超出标注有效期后，其使用性能未经验证。若任何培养基包装瓶或袋内出现颗粒物或浑浊现象，请勿使用。

粉末培养基

请在 2-8°C 的干燥条件下储存，并隔绝空气中的湿气。本品吸湿性强，应置于干燥环境中，避免受潮。使用前请将粉末恢复至室温，静置数分钟后打开，使用后请立即密封。正常粉末应呈自由流动状态，若出现结块请勿使用。在未开封且正确储存的条件下，本品有效期为 24 个月。应避免反复打开和关闭容器，因为接触空气会增加吸湿风险。超过标注的有效期，请勿使用。

使用说明

BalanCD HEK293 Perfusion A 粉末培养基水化操作

1. 使用适当大小的容器，将粉末培养基（28.12 g/L，货号# 94155）添加到WFI（971 mL/L，货号# 9309或同等物）中。
2. 以300-350 rpm的转速搅拌溶液约10分钟，或直至粉末完全溶解（此时溶液可能仍呈混浊状）。请使用中速搅拌，以避免产生气体或形成气泡。
3. 在溶液中加入2.20 g/L的碳酸氢钠，并以中速搅拌至完全溶解。
4. 本培养基配制后，其pH值与渗透压应符合特定标准——pH 6.9–7.4，渗透压 280–320 mOsm/kg。若在制备过程中由于任何因素导致这些数值超出预期范围，则根据需要进行调整。建议使用5N HCl或NaOH使pH值调节至规定范围内。
5. 使用 0.2 μ m 或 0.1 μ m 的 PES 滤膜进行无菌过滤。
6. 过滤后的溶液可在 2–8°C 的条件下避光保存，有效期最长为 1 年。
7. 在使用前，补充 20 mL/L 或 40 mL/L 200 mM L-谷氨酰胺（货号# 9317）到BalanCD HEK293 Perfusion A中，使其终浓度达到 4 mM 或 8 mM（根据具体应用选择）。

用于生物反应器：

1. 如需要，将培养基通过0.2或0.1 μ m滤膜过滤到经过验证的无菌袋中。
2. 无菌条件下加入L-谷氨酰胺至培养基中，使其终浓度为8mM。
3. 使用无菌焊接或Luer连接方式，将培养基袋与生物反应器进料管路在无菌条件下进行连接。
4. 使培养基流经管路，完成管路灌注并排除气泡。
5. 向生物反应器中加入培养基，使其达到所需的工作容积。
6. 将生物反应器的参数：温度、pH、溶氧（DO）和搅拌速率调整至设定值。
7. 执行24小时无菌保持，确保生物反应器无菌；在此期间，细胞培养基将逐步达到各项设定参数。
8. 无菌保持24小时后，如需可在细胞接种到生物反应器之前，完成pH/DO偏移校准步骤。
9. 将细胞接种到生物反应器中。
10. 定期监测pH、渗透压和代谢物水平，必要时补充葡萄糖和谷氨酰胺。如果葡萄糖水平下降到 3 g/L 以下，单次补料至 6 g/L。为了防止葡萄糖耗竭，可使用泵在 24 小时内逐步添加 2 g/L。

注意：这种补料策略可以根据需要每天重复多次。但葡萄糖浓度不能超过 6 g/L，最好保持在 3-6 g/L 之间以优化细胞生长。

细胞复苏和驯化

1. 向BalanCD HEK293 Perfusion A（货号# 91184或94155）中添加L-谷氨酰胺（货号# 9317），使其终浓度达到4mM。无菌条件下将适量（30 mL）补充后的培养基转移到125 mL摇瓶中，并在37°C，5% CO₂培养箱中预热。
2. 将冻存管快速置于37°C水浴中解冻。
3. 将细胞转移到含有预热BalanCD HEK293 Perfusion A的摇瓶中（来自步骤1），确保初始密度达到 3×10^5 cells/mL。
4. 在37°C，5% CO₂的培养箱中培养3 - 4天。
5. 按下方所述的传代方法进行细胞传代：

注意：细胞可直接适应BalanCD HEK293 Perfusion A。经过至少3次传代后，若细胞成功适应，其活细胞密度和活率应分别高于 1.5×10^6 cells/mL和90%。

6. 如果观察到严重的细胞聚集，请按以下建议继续传代：
 - a. 补加2 mL/L 抗结团添加剂（货号# 91150）。
7. 如果细胞生长缓慢（4天内密度低于 1×10^6 cells/mL）且活率低于90%，请按以下建议继续传代：
 - a. 将接种密度提高至 $0.5-1 \times 10^6$ cells/mL。
 - b. 每次传代时，将细胞离心并重悬于新鲜培养基中。
 - c. 按当前培养基：BalanCD HEK293 Perfusion A=1:1、1:2、1:4和0:1的比例逐步驯化细胞。

细胞传代步骤

1. 在BalanCD HEK293 Perfusion A中加入4mM的L-谷氨酰胺。
2. 每隔3-4天进行一次传代培养，使细胞处于对数生长早期。接种的密度为 $3-5 \times 10^5$ cells/mL。活细胞密度和细胞活率应在3天内分别达到 1.5×10^6 cells/mL和90%以上。
3. 如果观察到严重的细胞聚集，请按照以下建议继续传代：
 - a. 维持活细胞密度低于 2×10^6 cells/mL。
 - b. 如果问题仍然存在，请添加2mL/L的抗结团添加剂。

注意：抗结团添加剂的稀释比例控制在1:1000（1mL/L）到1:100（10 mL/L），具体添加量取决于聚集程度。

细胞冻存

1. 配制所需体积的冻存培养基（90%预冷的BalanCD HEK293 Perfusion A + 10% DMSO），置于4°C备用。
2. 取适量健康细胞，200 g 离心5分钟，倾倒或吸出上清液，不要触及细胞沉淀。
3. 以 1×10^7 cells/mL的密度（或根据用户需求设定其他细胞密度）将细胞重悬在预冷的冻存培养基中。
4. 按1mL /管（或所需体积）分装至无菌冻存管中。
5. 将冻存管置于专用程序降温盒内，以-1°C/min的速度缓慢降温至-80°C。
6. 细胞达到-80°C后，转移到气相液氮中进行长期储存。
7. 复苏时，将冻存管快速置于37°C水浴中解冻，将细胞悬液转移到含有预热BalanCD HEK293 Perfusion A的摇瓶中，以 3×10^5 cells/mL的初始细胞密度，在 37°C、5% CO₂条件下培养3-4天。
8. 按照传代流程进行后续培养，细胞通常在前1-2代生长缓慢。强烈建议使用前在BalanCD HEK293 Perfusion A中至少完成3次传代培养。

技术支持

联系我们

如需更多信息或帮助，请联系客户服务部：

- Email: biopharma@fujifilm.com
- 电话：021-50106000转生命科学部

网站资源

访问fujifilmbioscience.fujifilm.com获取技术资源和信息，包括：

- 安全数据表（SDS）
- 分析证书（CoA）（如有）
- 常见问题
- 产品资料
- 全球分支机构及联系方式一览表

富士胶片（中国）投资有限公司

公司地址：上海市浦东新区平家桥路100弄6号7号楼601单元

网址：<https://fujifilmbiosciences.fujifilm.com/us>

销售咨询：021-5010 6000 转生命科学事业部