

BalanCD HEK293 System

货号#	产品名称	产品形式	现有包装规格**
91165	BalanCD HEK293	液体	1 L
94137	BalanCD HEK293	粉末	10 L
91166	BalanCD HEK293 Feed	液体	500 mL
91150	Anti-Clumping Supplement	液体	50 mL

**可按需提供额外的规格

预期用途

仅供研究或进一步生产使用。

产品描述

BalanCD HEK293 系列是化学成分限定、不含动物源成分的培养基和补充剂平台，优化用于生产病毒载体和瞬时蛋白表达。该产品系列包括BalanCD HEK293培养基、BalanCD HEK293 Feed补料和Anti-Clump-ing Supplement补充剂。BalanCD HEK293系列不含水解物、L-谷氨酰胺、抗生素、抗霉菌剂或任何其他未明确的成分，可直接用于悬浮培养应用。BalanCD HEK293培养基含6 g/L葡萄糖，BalanCD HEK293补料含 40 g/L葡萄糖。BalanCD HEK293培养基可使用BalanCD HEK293 Feed为高细胞密度培养补料，或在转染后使用Anti-Clump Supplement以减少细胞聚团。

质量保证

所有质量控制测试的结果参见产品各个批次的分析报告（COA），详情请访问<https://fujifilmbiosciences.fujifilm.com/us>或咨询相关人员。

运输

本产品运输过程中附有冰袋。到货后，请立即储存在2-8°C的避光环境。

储存说明及稳定性

液体培养基

产品须在无菌技术下使用以避免发生污染。产品储存在2-8°C并避光。本产品在未开封和正确储存的情况下可稳定保存12个月。产品超过保质期限之后请勿使用。未开封保质期之后的使用未经验证。若出现颗粒或浑浊请立即停止使用。

粉末培养基

请将产品储存在2-8°C远离大气水分的干燥环境中。本产品具有很强的吸湿性，应保存在干燥的环境中，避免受潮。开封前将粉末平衡至室温，使用后请重新密封。粉末应该是自由流动的，如发现结块请勿使用。该产品在未开封和正确储存的情况下，可稳定保存24个月。超过保质期限之后请勿使用。

使用指南

BalanCD HEK293粉末培养基的水化

1. 将粉末培养基 (21.32 g/L, 货号#94137) 加入大小适当的容器中, 使用WFI (1000 mL/L, 货号#9309或其它替代品) 进行水化。
2. 搅拌溶液约10分钟, 直到粉末充分溶解 (这时溶液可能仍显浑浊)。
3. 向溶液中加入2.20 g/L碳酸氢钠, 以中等速度搅拌, 直到完全溶解。
4. 测量pH值 (预估范围6.7-7.4) 和渗透压 (预估范围280-320 mOsm/kg)。
5. 通过0.2 μ m滤膜进行无菌过滤。
6. 该溶液可在2-8°C的黑暗环境中储存1年。
7. 使用前向BalanCD HEK293培养基中补充20 mL/L的200 mM L-谷氨酰胺 (货号 #9317), 以达到4 mM的最终浓度。
8. BalanCD HEK293中含有0.1%的Poloxamer; 如果需要, 可以再额外补充0.05%到0.1%。

细胞的-复苏和驯化

1. BalanCD HEK293培养基 (货号# 91165或94137) 补充4 mM L-谷氨酰胺 (货号#9317)。将适量 (30 mL) 的已补充培养基无菌转移至一个带有挡板的125 mL摇瓶中, 并在37°C的5% CO₂培养箱中平衡。
2. 在37°C水浴中迅速解冻冻存管。
3. 将细胞悬液转移至含有预平衡BalanCD HEK293培养基 (步骤1) 的摇瓶中, 以达到3 x 10⁵ cells/mL的初始细胞密度。
4. 在37°C, 5%CO₂的培养箱中培养3至4天。
5. 按照下面概述的传代培养方案对细胞进行传代培养。

注意: 细胞可以直接加入BalanCD HEK293驯化。在BalanCD HEK293中至少传代三次后, 如果细胞被成功驯化, 活细胞密度和细胞活率应分别达到1.5 x 10⁶ cells/mL 和90%以上。如果观察到严重的细胞聚团, 请按照以下建议继续进行传代。

- a. 补充2 mL/L Anti-Clumping Supplement (货号#91150)。
6. 如果细胞生长缓慢 (4天少于1 x 10⁶ cells/mL) 且存活率低于90%, 请按照以下建议继续进行传代。
 - a. 增加接种密度至0.5-1 x 10⁶ cells/mL。
 - b. 每次传代时, 离心细胞并重悬于新鲜培养基中。
 - c. 按原培养基: BalanCD HEK293=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培养基 (货号#91165或94137) 中补充4 mM的L-谷氨酰胺 (货号#9317)。
2. 每2至3天对细胞进行传代培养, 使细胞处于早期对数生长期。以3-5 x 10⁵ cells/mL的密度进行接种。活细胞密度和细胞活率应在3天内分别达到1.5 x 10⁶ cells/mL和90%以上。

注意: 强烈建议将细胞密度保持在3 x 10⁶ cells/mL以下以获得较高的转染效率。

3. 如果观察到严重的细胞聚团, 请按照以下建议继续进行传代。
 - 保持活细胞密度低于2 x 10⁶ cells/mL。
 - 如果问题仍然存在, 加入2 mL/L of Anti-Clumping Supplement (货号#91150)。

注意: 请将Anti-Clumping Supplement的稀释度控制在1:1000 (1 mL/L) 到1:100 (10, mL/L), 具体加入量取决于聚团的程度。

使用指南

1. 准备所需体积的冻存培养基（90%预冷BalanCD HEK293 + 10% DMSO）。请将冻存培养基维持在4°C直到使用。
2. 适当数量的健康细胞以200 x g离心5分钟，倾倒或吸出上清液，请注意不要干扰细胞沉淀。
3. 将细胞重悬于冻存培养基中，密度为 1×10^7 活细胞/mL（或根据您的需要使用其他细胞密度）。
4. 将1 mL/管（或所需体积）的细胞悬液分装入冻存管。
5. 将冻存管转移至合适的冷冻容器中，以-1°C/min的速度逐渐将温度降低至-80°C。
6. 一旦细胞达到-80°C，转移到液氮气相中进行长期储存。

BalanCD HEK293的补料和补充剂

BalanCD HEK293培养基可以使用BalanCD HEK293 Feed补料和/或Anti-Clumping Supplement补充剂进行补充，以支持使用HEK293细胞的多种应用。如果细胞开始聚集，可向培养基中添加Anti-Clumping Supplement。加入此补充剂之后，必须在转染前从培养基中去除Anti-Clumping Supplement，因为此补充剂会完全抑制转染过程。

为了从培养基中去除Anti-Clumping Supplement，需要先进行离心，然后用1X PBS（货号# 9240）或BalanCD HEK293培养基（货号# 91165）润洗细胞。在进行转染之前，将细胞重悬于不含Anti-Clumping Supplement的BalanCD HEK293培养基中。

目的	BalanCD HEK293 Feed (Catalog #91166)	Anti-Clumping Supplement (Catalog #91150)
细胞库存的传代	不适用	可选：如果细胞开始聚团，添加 1-2 mL/L
转染后细胞生长和蛋白质产量的增强	适用 请参见: BalanCD HEK293 Feed 优化	可选：如果细胞开始聚团，最快在转染一天后添加 1-2 mL/L
病毒载体的生产	指南不适用	可选：如果细胞开始聚团，最快在转染一天后添加 1-2 mL/L
稳定转染细胞的生长和蛋白质产量的增强	适用 请参见: BalanCD HEK293 Feed 优化指南	使用前向BalanCD HEK293培养基补充至1 mL/L

**当延长培养时长超过一周时，建议使用BalanCD HEK293 Feed进行补料，但不建议用于细胞库存的传代。*

BalanCD HEK293 Feed优化指南

BalanCD HEK293 Feed可以用以下建议的标准补料方法进行评估。但是，为了达到更佳的培养效果，我们强烈建议优化补料时间和补料体积。

瞬时转染的表达

1. 生长培养基：含有4 mM L-Gln的BalanCD HEK293
2. 确定合适的补料体积。如下表所示在12-20%的范围内评估总补料体积。%补料体积 = 对于初始培养体积的百分比

使用指南

转染后第X天				总补料体积
1	2	3	4	
3%	3%	3%	3%	12%
4%	4%	4%	4%	16%*
5%	5%	5%	5%	20%

*推荐的标准补料方式

3. 使用第2步中确定的补料体积来确定补料计划。补料可以以相同体积分成4次进行。下表为总体积20%的例子。

转染后第X天							
1	2	3	4	5	6	7	8
5%	5%	5%	5%				
	5%	5%	5%	5%			
		5%	5%	5%	5%		
			5%	5%	5%	5%	
5%		5%		5%		5%	
	5%		5%		5%		5%

稳定转染的表达

1. 生长培养基：含有4 mM L-Gln和1 mL/L Anti-Clumping supplement的BalanCD HEK293
2. 确定合适补料体积。如下表所示在10-25%的范围内评估总补料体积。
%补料体积 = 对于初始培养体积的百分比

培养时间					总补料体积
3	4	5	6	7	
2%	2%	2%	2%	2%	10%
3%	3%	3%	3%	3%	15%
4%	4%	4%	4%	4%	20%*
5%	5%	5%	5%	5%	25%

*推荐的标准补料方式

3. 使用第2步中确定的补料体积来确定补料计划。补料可以以相同体积分成5次进行。下表为总体积20%的例子。

转染后第X天							
1	2	3	4	5	6	7	8
5%	5%	5%	5%				
	5%	5%	5%	5%			
		5%	5%	5%	5%		
			5%	5%	5%	5%	
5%		5%		5%		5%	
	5%		5%		5%		5%

应用数据示例

PEI诱导的转染

以下PEI介导的瞬时转染方案可作为优化转染方案的一般指南。我们强烈建议优化转染参数，因为转染参数可能根据应用的不同而变化。

BalanCD HEK293培养基也与其他如使用阳离子脂质体或电穿孔的转染方法兼容。

AAV生产

示例的培养条件

- 培养基：含有4 mM L-谷氨酰胺和0.1% Poloxamers 的 BalanCD HEK293
- 细胞库存：将HEK293细胞直接在BalanCD HEK293培养基中复苏，如上所述进行补充。在转入生物反应器进行生产之前传代三次（每隔3-4天传代一次）。
- 培养容器：工作体积为2L 的桌面生物反应器
- 接种密度： 3×10^5 cells/mL
- 培养箱环境设定：37°C、5% CO₂、加湿
- 第三天的转染
 - >90%细胞活率
 - 转染试剂：聚乙烯亚胺(PEI)
 - 构建AAV载体使用的3种质粒
 - DNA:PEI的比例=1:1.5
 - 每 10^6 个细胞的总DNA量为2 µg

相关产品

货号#	产品名称	规格
91166	BalanCD HEK293 Feed	500 mL
91150	Anti-Clumping Supplement	50 mL
9317	L-Glutamine Solution (200mM)	100 mL, 500 mL
9240	1X PBS, Dulbecco's Phosphate Buffered Saline	100 mL, 500 mL, 1L

技术支持

联系我们

如果您需要更多信息或帮助，请联系我们的客服中心：

- Email: biopharma@fujifilm.com
- 电话：021-5010 6000 转生命科学事业部

网络资源

访问我们的网站<https://fujifilmbiosciences.fujifilm.com/us>获取技术资源和信息：

- 安全数据表 (SDS)
- 分析报告
- 常见问题
- 产品资料
- 按国家分列的详细工作地和联系方式清单

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