

OPM-293 CD03

全新化学成分确定 HEK293 细胞培养基

—— 用于生物制药研发及生产



OPM-293 CD03 是完全化学成分确定 (Chemically-defined) 的培养基，不含水解物、蛋白、生长因子、L-Glutamine 及任何动物来源的成分，适合于各种亚型 HEK293 细胞的高密度培养及高效率瞬时转染。

应用范围

OPM-293 CD03 可应用于蛋白生产和基因治疗。该培养基适用于科研和基于细胞培养的大规模生物制品的生产，但不可直接用于人体或作为药物使用。

储存运输方法

储存：2~8°C 冷藏，干燥避光保存

运输：常温（液体）、冷藏（干粉）

有效期

OPM-293 CD03 Medium 液体：12 个月

OPM-293 CD03 DPM 干粉：24 个月

液体培养基配制方法

1. 取洁净的配制容器，建议一次性配制体积不低于 1L；
2. 加入最终配制体积 90% 的超纯水或注射用水，水温控制在 25~35°C；
3. 称量 17.93 g/L 干粉培养基，缓慢加入水中搅拌 10 分钟；
4. 称量 2.22 g/L 碳酸氢钠，加入水中搅拌；
5. 缓慢加入 5N NaOH 调节 pH 到 8.3~8.5，搅拌 30 分钟，此时应完全溶解；
6. 缓慢加入 5N HCl 将 pH 调回至 7.0；
7. 定容到最终配液体积，继续搅拌 5 分钟，测 pH，用 5N NaOH 或 5N HCl 将 pH 调回至 7.0；
8. 取样测渗透压，加入 NaCl 调节渗透压至 275±10mOsm/kg（渗透压计算公式： $\text{NaCl 添加量 (g)} = \text{配液体积 (L)} * (275 - \text{检测值}) / 31.5$ ）；
9. 继续搅拌 10 分钟，无菌过滤到合适容器，2~8°C 避光保存。

干粉及液体培养基质量指标

产品指标	OPM-293 CD03 Medium	OPM-293 CD03 DPM
外观	红色透明液体	类白色或淡黄色、均一粉末
pH 值	7.0~7.4	7.0~7.4
渗透压(mOsm/kg)	270~300	270~300
溶解性	---	按配制规程操作溶解良好
内毒素(EU/mL)	<1.0	<1.0
无菌检查	应无菌生长	---

培养条件

温度 37°C，湿度 80%，5~8% CO₂

摇床设置：转速 110~150 rpm（振幅 50 mm）

细胞复苏

1. 在 37°C 水浴中快速 (<2min) 融化冷冻的细胞；
2. 将冷冻管中的细胞液全部转移到含有 30mL 预温过的 OPM-293 CD03 Medium 培养基的 125mL 摇瓶中；
3. 放入 37°C, 5~8% CO₂, 转速 115~135rpm (振幅 50mm) , 湿度 80% 的摇床中培养。

细胞传代

1. 将 OPM-293 CD03 Medium 培养基放入 37°C 条件下预热 20-30min。
2. 取细胞密度 $\geq 3 \times 10^6$ ~ 4×10^6 cells/ml、活率 $\geq 95\%$ 、处于对数生长期中期的细胞进行传代；注意：不同类型的 HEK293 细胞可能具有不同的对数生长期范围。
3. 按接种密度为 0.3×10^6 ~ 0.6×10^6 cells/L。
4. 无菌转移所需量的种子液至合适体积的摇瓶中，并添加所需体积的已预热的 OPM-293 CD03 Medium 培养基。
5. 将摇瓶放入温度 37°C, 湿度 80%, 转速 110-150rpm (振幅 50mm) , 5%~8%CO₂ 的细胞培养摇床中进行培养。

*每 2~3 天用新鲜的培养基按上述步骤进行传代培养。

细胞驯化

直接接种法

1. 对于可以直接驯化的细胞，可以从无血清培养基中直接接种到 OPM-293 CD03 Medium 培养基中，接种密度参考传代步骤。
2. 继续传代细胞，直到细胞稳定生长。
3. 传代几代之后，细胞密度在接种的 3~4 天内达到 3×10^6 cells/mL、细胞活性 $\geq 95\%$ 。此时，可以认为细胞已被驯化成功。

梯度驯化法

1. 如果直接驯化效果不佳，请尝试按照以下梯度驯化表格进行操作。
2. 选择低代次的细胞，并确保细胞处于对数期。
3. 使用原始培养基培养细胞，并继续使用原始培养基传代 2~3 代，以实现稳定的细胞生长。
4. 在完全使用 OPM-293 CD03 Medium 培养基接种 3~4 天之后，VCD 应该稳定达到 3×10^6 cells/mL，细胞活性 $\geq 95\%$ 。此时，细胞已经驯化到 OPM 培养基中。

293 CD03 : 原始培养基 (%)	接种细胞密度 ($\times 10^6$ cells/mL)	细胞生长评估	进行下一步前的验收标准
0:100	as usual	VCD & Viability	VCD $\geq 3 \times 10^6$ /mL, Viability $\geq 95\%$ over 2 passages
30:70	0,6	VCD & Viability	VCD $\geq 3 \times 10^6$ /mL, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
70:30	0,5	VCD & Viability	VCD $\geq 3 \times 10^6$ /mL, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages
100:0	0,4	VCD & Viability	VCD $\geq 3 \times 10^6$ /mL, Viability $\geq 90\%$ over 2 passages

转染和瞬时表达

推荐的转染条件

最佳转染条件应根据具体情况进行优化，可能需要通过 DOE 方法确定。以下转染条件仅供参考。

VCD	2 x 10 ⁶ ~ 4 x 10 ⁶ cells/ml
DNA	0.7 ~ 2 mg/L
DNA/PEI 比例	1/2 ~ 1/6

推荐的补料添加方案

补料	补料添加方案
OPM-293 ProFeed	24h/48h post-transfection add 5% OPM-293 ProFeed

推荐转染流程

时间线	步骤	说明
转染前准备	1	传代培养并扩增 HEK293 细胞，直至细胞密度达到约 3 x 10 ⁶ ~ 4 x 10 ⁶ cells/mL，活率 ≥95%。
转染前一天 (第-1天)	2	转染前一天 (第-1天)，将步骤 1 中的细胞以合适的密度接种，使细胞生长过夜达到转染密度。
转染当天 (第 0 天)	3	在转染当天 (第 0 天)，获取包括细胞密度和存活率的数据。细胞应达到建议的密度。进行转染的细胞活率应 ≥95%。如果细胞密度过高，请使用新鲜的培养基将细胞稀释至推荐的细胞密度。 注意：丢弃剩余的细胞，不要重复使用高密度细胞进行常规传代培养
	4	用 OPM-293 CD03 Medium 培养基稀释质粒 DNA。通过旋转和/或翻转试管混匀。
	5	将 PEI 管轻轻翻转 4 至 5 次以充分混匀。并用 OPM-293 CD03 Medium 培养基稀释 PEI。通过旋转和/或翻转试管来混合。
	6	将稀释后的 PEI 加到稀释后的质粒 DNA 中。旋转和/或颠倒试管或用移液器轻轻吹打 2 至 3 次进行混合。将复合物在室温下孵育约 20 分钟。
	7	将复合物缓慢添加至步骤 3 的细胞摇瓶中，在添加过程中轻轻摇动摇瓶。
	8	将摇瓶放回 37°C 培养箱中按日常条件培养。
第 1 天	9	在第二天 (第 1 天)，在转染后 16~22 小时向摇瓶中添加 5% (v/v) 293-ProFeed，在添加过程中轻轻晃动摇瓶。将摇瓶放回 37°C 培养箱。
第 2~7 天	10	在瞬时表达过程中，维持葡萄糖浓度在 4g/L 以上。当细胞活率低于 60% 时收获细胞。

订购信息

基础培养基

产品	产品号	类型	规格	描述
OPM-293 CD03 DPM	91070-010	干粉	10L	不含 L-Glutamine
	91070-050	干粉	50L	
OPM-293 CD03 Medium	81070-001	液体	1000mL	不含 L-Glutamine

补料培养基

产品	产品号	类型	规格	描述
OPM-293 ProFeed	F081918	液体	100mL	无蛋白补料
	F081918-001	液体	1000mL	

其他 293 系列培养基

产品	产品号	类型	规格	描述
OPM-293 CD05 Medium	81075-001	液体	1000mL	含 L-Glutamine
OPM-CD Trans293	P82019	液体	1000mL	含 L-Glutamine



上海奥浦迈生物科技股份有限公司
Shanghai OPM Biosciences Co., Ltd.

奥浦迈总部：上海市浦东新区紫萍路 908 弄 28 号楼
CDMO 服务基地：上海市浦东新区半夏路 100 弄 3 号楼
培养基&CDMO 生产基地：上海市奉贤区正博路 356 号 C3&D3

021-6818 2622
service@opmbiosciences.com
www.opmbiosciences.com

