

MetaCell[®] TransAAV 01

化学成分确定培养基

产品简介

MetaCell[®] TransAAV 01是为满足多种HEK293细胞系针对AAV病毒血清型包装而设计的培养基。该培养基不含水解物、蛋白质和任何动物源成分，可支持各种HEK293细胞特别是VPC2.0细胞和293F细胞的高密度生长与瞬时转染。培养基成分经过高度优化，兼容商业化阳离子转染试剂。

MetaCell[®] TransAAV 01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用。

MetaCell[®] TransAAV 01已含有4mM谷氨酰胺衍生物。

产品名称	形态	产品编码	包装规格	储存条件	有效期	推荐使用范围
MetaCell [®] TransAAV 01	液体	L2010-0500	500mL	2-8°C, 密闭、避光	12个月 (暂定)	针对AAV病毒血清型包装的多种HEK293细胞系
		L2010-1000	1000mL			

培养条件

培养基: MetaCell[®] TransAAV 01

培养类型: 悬浮

细胞系: Expi293F[™], FreeStyle[™] 293-F, VPC2.0

培养参数设置:

摇瓶体积	125mL	250mL	500mL	1L	5L	3L
培养体积 (mL)	30-35	60-70	120-140	240-280	600-1000	1500-2000
摇床转速	125±5 rpm (振幅19mm) 120±5 rpm (振幅25mm) 95±5 rpm (振幅50mm)				105±5 rpm 95±5 rpm 80±5 rpm	
摇瓶类型	PETG或者PC材质, 透气, 无挡板					
培养环境	37±0.5 °C, 8% CO ₂ , 湿度≥80%, 确保适当的气体交换并尽量避光培养					

细胞复苏

- 干冰运输的细胞应立刻复苏或放置在液氮环境下3-7天后再进行细胞复苏。
- 提前取39mL MetaCell[®] TransAAV 01 于125mL摇瓶中37 °C预热。
- 从液氮罐中取出一支冻存细胞, 置37 °C水浴锅中, 水浴1-2分钟, 注意观察冻存管里细胞冰块状态。
- 15mL离心管里添加9mL预热的MetaCell[®] TransAAV 01 培养基, 将复融后的细胞转移至其中混匀。
- 1000rpm离心4分钟后, 弃上清, 使用已预热的MetaCell[®] TransAAV 01 培养基重悬细胞, 然后全部转移至125mL摇瓶中, 确定最终培养体积为30mL, 混匀后取样测定细胞的密度和活率, 细胞密度应该在 $0.3-0.4 \times 10^6$ cells/mL。

注: 通常细胞的活率会在解冻后24h内略有下降, 培养3-4天后, 会逐渐恢复到90%以上。

6. 建议的摇床培养参数37 °C, 8% CO₂, 95±5 rpm (振幅50mm)。
7. 培养3-4天后, 当细胞密度≥3.0×10⁶ cells/mL, 且活率≥90%时传代。

注: 若细胞复苏2-3代后, 细胞生长状态正常, 活率≥95%, 应尽快安排冻存。

细胞传代

1. 提前将MetaCell[®] TransAAV 01 放入37 °C条件下预热20-30分钟。
2. 当细胞密度达到3.0-4.0×10⁶ cells/mL且细胞活率≥95% (2-4天) 时, 即可进行传代培养。

注: 不同类型的HEK293细胞可能具有不同的对数生长期范围, 需根据实际情况确定传代时间, 以保持细胞传代培养时处于对数生长期的早期。

3. 推荐的细胞接种密度0.4-0.6×10⁶ cells/mL。
4. 无菌转移所需的种子细胞液至摇瓶中, 并添加适量已预热的MetaCell[®] TransAAV 01 培养基, 参考培养条件设置摇床参数, 每2-4天用新鲜培养基按上述步骤进行传代培养。
5. 细胞解冻复苏后传代三次以上, 待细胞生长状态稳定后方可进行后续转染或冻存等实验。

细胞冻存

1. 准备好足量的处于对数生长早期且细胞活率≥95%的细胞作为冻存用细胞。
2. 最终的细胞冻存密度控制在10.0-15.0×10⁶ cells/mL。
3. 提前配制冻存液 (90% MetaCell[®] TransAAV 01 +10% DMSO), 2-8 °C预冷30分钟备用。
4. 取适量细胞悬液, 1000rpm离心4分钟, 弃上清, 用2-8 °C预冷的冻存液重悬后, 按照冻存规格, 立即将细胞悬液分装至冻存管中。
5. 通过程序降温或人工控制等方式将细胞逐步降温至-80°C冷冻状态 (降温速率为1°C/分钟)。
6. 24小时后将完成冷冻的细胞转移至液氮储罐 (气相) 中储藏 (储存温度范围: -200°C至-125°C)。

细胞驯化

大多数情况下, 无血清培养的HEK293细胞可以直接适应MetaCell[®] TransAAV 01, 如果直接更换培养基 (直接驯化) 失败, 则推荐采用梯度替换 (间接驯化) 的方法使HEK293细胞适应MetaCell[®] TransAAV 01。

注: 用于驯化的HEK293细胞需要处于对数生长期的早期, 且活率≥95%。

● 直接驯化法

1. 对于可以直接驯化的细胞, 当细胞活率≥95%且处于对数生长早期时, 可尝试直接从无血清培养基接种到MetaCell[®] TransAAV 01 中。
2. 以 0.4-0.6×10⁶ cells/mL 的接种密度将 HEK293 细胞接种至新鲜的 MetaCell[®] TransAAV 01 中 (参看细胞传代步骤)。
3. 培养3-4天后, 检测细胞密度以及活率, 此时细胞活率应≥95%, 如果活率较低, 则需要采用间接驯化法。
4. 继续传代3-4次, 当细胞密度在接种的3-4天内达到3.0-4.0×10⁶ cells/mL, 且细胞活率≥95%时, 可认为驯化完成, 后续可进行正常的细胞传代、转染和冻存。

● 间接驯化法

1. 用原培养基调整待驯化细胞的密度至0.5-0.8×10⁶ cells/mL, 加入25%体积的MetaCell[®] TransAAV 01, 使得最终细胞密度为0.4-0.6×10⁶ cells/mL。
2. 培养3-4天后传代, 传代的起始密度仍为0.4-0.6×10⁶ cells/mL,

- (1) 如细胞生长状态良好，且活率 $\geq 90\%$ ，则传代时调整原培养基与MetaCell[®] TransAAV 01的比例为50:50；
- (2) 如细胞生长缓慢，可对细胞进行离心换液，离心条件为1000rpm，4分钟。此时的混合培养基依旧为原培养基和MetaCell[®] TransAAV 01以75:25比例混合。
3. 重复步骤2并逐渐增加MetaCell[®] TransAAV 01所占的比例（推荐比例 50:50，25:75），直到使用100%的MetaCell[®] TransAAV 01进行细胞培养。
4. 在100%的MetaCell[®] TransAAV 01中继续培养3-5代，当细胞密度在接种的3-4天内达到 $3.0-4.0 \times 10^6$ cells/mL且细胞活率 $\geq 95\%$ 时，可视为驯化完成。驯化完成后至少传代三次，待细胞生长状态稳定后方可进行后续转染或冻存等实验。

细胞转染

具体操作请参考思鹏生物MetaCell[®] TransAAV Media Panel 使用说明。

产品订购信息：

产品	类别	形态	目录号	包装规格
MetaCell [®] TransAAV 01	培养基	干粉	P2010-X010	10L
			P2010-X100	100L
		液体	L2010-0500	500mL
			L2010-1000	1000mL
MetaCell [®] TransAAV 02	培养基	干粉	P2007-X010	10L
			P2007-X100	100L
		液体	L2007-0500	500mL
			L2007-1000	1000mL
MetaCell [®] TransAAV 03	培养基	干粉	P2008-X010	10L
			P2008-X100	100L
		液体	L2008-0500	500mL
			L2008-1000	1000mL
MetaCell [®] TransAAV Titer Enhancer	添加剂	液体	L2013-0010	10mL
			L2013-0100	100mL
			L2013-1000	1000mL
MetaCell [®] TransAAV Media Panel	/	/	L2011	1 kit

-----最初编制日期：2024.07 -----最新修订日期：NA -----