

ExCell Bio

OptiViro® 293 无血清病毒包装培养基 HE03 说明书

本品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗

货 号

HE000-N071

HE000-N072

HE000-N081

HE000-N082

HE000-N083



产品概述

OptiViro® 293 无血清病毒包装培养基 HE03 是专为 AAV 病毒包装设计无血清、无动物源成分、化学成分明确的基础培养基，支持悬浮的 HEK 293 衍生细胞（293T、293F 等）快速扩增、高密度生长以及质粒转染，搭配 OptiViro® 293 无血清补料培养基 HA03 可显著提高 AAV 滴度。

产品规格及储存、运输要求

产品名称	货号	规格	存储条件	运输条件	有效期
OptiViro® 293 无血清病毒包装培养基 HE03	HE000-N071	500 mL 液体	2-8°C 遮光	< 25°C 遮光	12 个月
	HE000-N072	1000 mL 液体			
OptiViro® 293 无血清病毒包装培养基 HE03（粉体）	HE000-N081	1 L 粉体	2-8°C 干燥、避光	< 10°C 避光	24 个月
	HE000-N082	10 L 粉体			
	HE000-N083	100 L 粉体			

产品注意事项

- 产品存储过程中需要遮光，避免日光灯或其他灯光照射，在冰箱或仓库储存时建议使用有色包装袋。
- 产品运输过程中需要遮光运输，避免日光或其他灯光照射对产品的外观产生影响导致外观变色。
- 产品在使用过程中需要转运至洁净区内时，灭菌方式只能采用消毒剂擦拭灭菌，不能使用紫外灭菌。

【注意】：在经过带有紫外的传递窗时，需要主动关闭传递窗内的紫外灯。

I 操作方法

OptiViro® 293 无血清病毒包装培养基 HE03 粉体制备方法

1. 以配制 1L 液体培养基为例，取洁净的配制容器，加入最终配制体积 80% 的注射用水或细胞培养级用水；
2. 称量干粉培养基 24.032 g，缓慢加入水中，搅拌 30-40 min；
3. 缓慢加入 5 mol/L NaOH 溶液约 4.5 mL，调节 pH 至 8.5-8.8 后，搅拌 10 min；
4. 加入碳酸氢钠 2.317 g，搅拌 10 min；
5. 缓慢加入 6 mol/L HCl 溶液，约 3.5 mL，调节 pH 至 7.0-7.2 后，搅拌 10 min；
6. 加入注射用水或细胞培养级用水并定容至 1L，继续搅拌 5 min；
7. 测量 pH 和渗透压，pH 应为 6.9-7.5，渗透压应为 290-330 mOsmol/kg；
8. 0.22 μ m 滤膜除菌过滤后，2-8°C 遮光保存。

细胞培养

1. 建议恒温恒湿摇床培养，条件设置 37°C，5% CO₂，摇床转速为 90-120 rpm。根据细胞生长情况，每 2-3 天传代一次，活细胞密度达到 $4.0-6.0 \times 10^6$ cells/mL 时即可进行传代，传代密度建议为 $0.6-1.0 \times 10^6$ cells/mL。传代培养无需额外添加谷氨酰胺。
2. 若 293 细胞原来使用的培养基为其他品牌，可直接或逐步转入本培养基进行传代培养，传代 3 次（9-10 天）后细胞可适应本培养基，细胞扩增速度及细胞活率达到稳定状态，可进行后续实验。
3. 若 293 细胞是用其他品牌培养基培养后冻存的，推荐用细胞冻存前使用的培养基来复苏细胞，传一代后换成本培养基，再传代 3 次，细胞扩增速度及细胞活率达到稳定状态，可进行后续实验。使用本培养基产品培养后冻存的细胞，则可以使用本培养基产品复苏培养。

转染方法建议

以下介绍 293 无血清病毒包装培养基 HE03 和 293 无血清补料培养基 HA03 的使用方法，为提高病毒产量需要两者搭配使用。

1. 细胞复苏后，稳定传代 3 次后用于转染实验，保证细胞活率大于 90%。

2. 转染前一天，使用新鲜的 OptiViro® 293 无血清病毒包装培养基 HE03，按照 1.1×10^6 cells/mL 密度接种。

【注意】该接种密度是为了转染前密度能够达到 2.2×10^6 cells/mL 左右，可根据细胞扩增速度对转染前一天的接种密度稍做调整。

3. 转染当天，按照 20 mL/125 mL 摇瓶培养体系，将细胞用新鲜的 OptiViro® 293 无血清病毒包装培养基 HE03 调整至 18 mL，细胞总量 4.0×10^7 cells，转染时细胞密度为 2.2×10^6 cells/mL 左右。

4. 制备 PEI/DNA 复合物：

本方案中，转染体系为 20 mL，细胞终密度为 2.0×10^6 cells/mL，DNA 终浓度 1.5 μ g/mL，DNA:PEI=1:3，具体操作如下：

PEI MAX 稀释：将 90 μ g PEI MAX（本方案中使用 Polysciences 品牌 PEI MAX，货号 24765-1）用 OptiViro® 293 无血清病毒包装培养基 HE03 稀释至 1 mL 体系，室温孵育 5 min。

DNA 稀释：将 30 μ g DNA 用 OptiViro® 293 无血清病毒包装培养基 HE03 稀释至 1 mL 体系，室温孵育 5 min。

PEI 与 DNA 混合：将 PEI Max 稀释液加入到 DNA 稀释液中，形成 PEI/DNA 复合物，混匀，室温孵育 10 min。

5. 将制备好的 2 mL PEI/DNA 复合物缓慢添加到培养体系中，随后转移到培养箱继续培养。

6. 转染后 24 小时左右，添加 5% 体积的 OptiViro® 293 无血清补料培养基 HA03（20 mL 体系补充 1 mL 补料）。

7. 转染后 48-72 小时，可进行病毒收获。

8. 若培养体系扩大，可按比例增加相应物质的添加量，不同规格条件的添加量可参考表 1。为了获得更优的病毒包装滴度，建议搭配本公司的补料培养基使用，相关信息见表 2。

表 1 不同转染规格推荐添加量

细胞培养容器	125 mL	500 mL	1 L
细胞数量 ($\times 10^6$ cells)	40	200	400
OptiViro® 293 无血清病毒包装培养基 HE03 (mL)	18	90	180
DNA 稀释液 (mL)	1	5	10

PEI 稀释液 (mL)	1	5	10
DNA (μg)	30	150	300
PEI 试剂 (μg)	90	450	900
OptiVibro® 293 无血清补料培养基 HA03 (mL)	1	5	10
最终培养体积 (mL)	~21	~105	~210

表 2 相关产品货号

产品名称	货号	规格
OptiVibro® 293 无血清补料培养基 HA03	HA000-N031	100 mL 液体
	HA000-N032	1000 mL 液体
OptiVibro® 293 无血清补料培养基 HA03 (粉体)	HA000-N041	1 L 粉体
	HA000-N042	10 L 粉体

【注意】以上转染方法仅供参考，为获得 293 细胞最优转染条件，可进行 DoE 设计（细胞密度、DNA 浓度、DNA 与 PEI 比例、补料及病毒收获时间等），确定最佳实验方案，不同项目的补料或收获时间可能不一样，可对此进行优化。

免责声明

1. 产品应按照说明书指导使用，实验者未按说明书操作，本公司不对由此导致的产品性能偏离承担责任。
2. 产品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。