

# Gxpress 293 Feed medium

## Chemically defined medium

---

### 1 製品情報

Gxpress 293 Feed 培地は、ヒト由来 HEK293 細胞（例 ; Expi293F 細胞、293-F 細胞、293T 細胞 VPC 細胞等）の Fed-Batch 培養/パーフュージョン培養（発現&生産）のためにデザインされた、化学的に成分が明らかな完全合成培地です。

Gxpress 293 Feed 培地には、タンパク質や抗生物質、加水分解物、動物成分、ヒト由来成分、高分子、フェノールレッドを含まず、ロット間の均一性を高めた培地です（エンドトキシンは 0.25 EU/mL 未満）。このため、ヒトモノクローナル抗体等の組換えタンパク質の精製ステップをより容易に進めることができます。また、遺伝子導入や遺伝子発現を阻害しませんので、293 細胞への高効率トランスフェクション試験や組換えタンパク質、ワクチン用ウイルス等の生産システムに利用できます。

（保存温度 ; 2–8°C 冷暗所）

### 2 培養条件

Cell line: 293 cells

Culture type: Suspension or Adhesive

Culture vessels: Flask, plate, dish, or culture bag, etc.

Incubate atmosphere: Humidified atmosphere of 5–8% CO<sub>2</sub> in air

Temperature range: 36°C to 38°C

Shaker culture: 120–130 rpm

### 3 ご使用の前に

- ・開封後は期限表示に関わらずお早めにご使用ください。
- ・Gxpress 293 Feed 培地には、L-グルタミンや L-アラニル-L-グルタミンは含まれていません。
- ・Gxpress 293 Feed 培地には、抗生物質は含まれていません。血清培養と異なり、無血清培養時に抗生物質を添加する際には注意が必要です。抗生物質が細胞増殖を抑制する場合があります。ご使用の際には、血清培地で使用する場合と比べて、半分量～10 倍量少ない条件でのご使用をオススメしています。

## 4 培養プロトコール

### (1) 凍結細胞の播種

293 細胞 (凍結保存 ; 無血清培地に馴化した細胞) を、素早く Water-Bath 中で溶解します。HE400AZ 培地を 10 mL 加えた 15-mL 用の遠心チューブに、293 細胞を移します。遠心回収 (200 x g、5 分間) した細胞ペレットに、HE400AZ 培地を 10 mL 加えて懸濁します。細胞数と生存率を測定します。

凍結保存した 293 細胞は、継代培養を 3 回繰り返して、細胞の状態を回復してから、研究試験にご使用ください。

### (2) 継代培養

#### < シェーカー培養 (125-mL Shaker Flasks) >

細胞密度  $3 \times 10^5$  cells/mL ( $2-4 \times 10^5$  cells/mL) で、HE400AZ 培地を加えた 125 mL ディスポーザブル三角フラスコ (Erlenmeyer Flasks) に播種します。その際の最終の培地量は 30 mL として、三角フラスコは、ガス交換ができる状態にして、37°C、湿度の保たれた CO<sub>2</sub> インキュベーター庫内でシェーカー培養します。

培養 4 日目 (3 - 5 日間) に、50-mL 用の遠心チューブに、293 細胞を移します。遠心回収した細胞ペレットに、HE400AZ 培地を 10 mL 加えて懸濁します。細胞数と生存率を測定します。細胞密度  $3 \times 10^5$  cells/mL ( $2-4 \times 10^5$  cells/mL) で、HE400AZ 培地を加えた 125 mL ディスポーザブル三角フラスコ (培地量 30 mL) に播種して、シェーカー培養します。

継代培養の間隔は、グルタミンを選択した場合とアラニルグルタミンを選択した場合では異なります。コンフルエントの状況を観察して、継代培養の間隔を決定します。

### (3) Supplementation Method

最適化された Gxpress 293 Feed 培地の添加条件を設計する際に考慮すべきポイントは、培養液に追加する Feed 培地の添加する時期と量です。一般に、293 細胞の培養期間中に合計で 5% から 40% を添加すると、組換えタンパク質の生産量が改善されます。

#### < Single-Day Supplementation >

1. 細胞を採取し、生細胞密度を決定します。
2. 成長率が対数中間期にあることを確認します。
3. 293 細胞を  $2-3 \times 10^5$  cells/mL の播種密度で 25 - 30 mL の新しい HE400AZ 培地に移します。
4. 125 rpm で回転するシェーカープラットフォーム上にセットして、37°C でインキュベートします。
5. 培養 1 日目に、5%、10%、20%、30% または 40% の容量の Gxpress 293 Feed 培地を加えます。

6. 細胞密度と組換えタンパク質の量を決定します。

< Multiple-Day Supplementation >

Gxpress 293 Feed 培地の添加条件を完全に最適化するために、複数日の方法を検討してください。

1. 生細胞密度を求めます。成長率対数中間期にあることを確認してください。
2. 293 細胞を  $2-3 \times 10^5$  cells / mL の播種密度で 25–30 mL の新しい HE400AZ 培地に移します。
3. 125 で回転するシェーカープラットフォーム上にセットして、37°C でインキュベートします。
4. 培養 0 日目または 1 日目の培養液に、5% 容量の Gxpress 293 Feed 培地を添加します。
5. 培養 2 日目または 3 日目の培養液に、5% 容量の Gxpress 293 Feed 培地を添加します。
6. 培養 4 日目または 5 日目の培養液に、5% 容量の Gxpress 293 Feed 培地を添加します。
7. 培養 6 日目または 7 日目の培養液に、5% 容量の Gxpress 293 Feed 培地を添加します。
8. 培養 8 日目または 9 日目の培養液に、5% 容量の Gxpress 293 Feed 培地を添加します。
9. 細胞密度と組換えタンパク質の量を決定します。

(4) グルコース、グルタミン、その他の培地添加剤について

グルコースとグルタミンは、293 細胞の培養で急速に枯渇することがあります。経験的に決定されるかまたは培地のモニタリングに基づいて、それらの濃縮物を添加することも大切です。また、全てのアミノ酸を定量して、枯渇したそれらの成分の補充プランを設計することも可能です。

5 その他の情報

本製品は研究用です。ヒト及び動物の診断・治療、それ以外の特殊な条件下では、使用しないで下さい。本製品及び本製品を含む溶液に、酸または漂白剤を加えないで下さい。酸または漂白剤を混合すると有毒ガスを発生します。安全対策のもと、取り扱いには十分に注意してご使用下さい。安全データシート (SDS) 及び品質保証データ (COA) はホームページ (<https://gmep.co.jp>) から取得して下さい。

## 6 関連製品

## &lt; Transfection System &gt;

|  |                |
|--|----------------|
| Gxpress 293 Transfection & Medium Kit    | GX293-MAK-0010 |
| Gxpress 293 Transfection & Medium Kit II | GX293-MK-0010  |
| Gxpress 293 Transfection Kit             | GX293-RK-0010  |
| Gxpress 293 TF Reagent                   | GX293-TF-0010  |
| Gxpress 293 Enhancer                     | GX293-EN-0010  |

## &lt; Chemically Defined Medium &gt;

|                         |               |                    |
|-------------------------|---------------|--------------------|
| HE100 medium            | HE100-0010    | Adhesive culture   |
| HE150 medium            | HE150-0005    | Cloning assay      |
| HE200 medium            | HE200-0010    | Suspension culture |
| HE300 medium            | HE300-0010    | Suspension culture |
| HE300AZ medium*         | HE300AZ-0010  | Suspension culture |
| HE400 medium            | HE400-0010    | Suspension culture |
| HE400AZ medium*         | HE400AZ-0010  | Suspension culture |
| Gxpress 293 Feed medium | GX293-FD-0010 | Fed-Batch culture  |

\* Ready-to-use medium with L-alanyl-L-glutamine