

293 Cell Culture Medium, Serum free

293 细胞无血清培养基

产品编号	产品名称	规格
BL3301B	293细胞无血清培养基	1000 mL

产品简介:

293 细胞无血清培养基 (293 Cell Culture Medium, Serum free) 适合各种亚型 HEK293 细胞的高密度培养、传代及高效率瞬时转染细胞培养的大规模生物药生产, 但不可直接用于人体或作为药物使用。

使用方法 (仅供参考):

一、培养条件:

温度 37°C, 湿度 80%, 5-10% CO₂

摇床设置: 转速 110-130 rpm (振幅 50 mm)

二、细胞复苏:

1. 在 37°C 水浴中快速解冻细胞冻存管至细胞融化 (约 1-2 min);
2. 将细胞液全部转移到已预热的含 24 mL 293 细胞无血清培养基的 125 mL 摇瓶中;
3. 放入摇床中培养 (若复苏后密度、活率不高, 可在复苏时离心)。

三、细胞传代:

1. 室温或 37°C 将培养基提前预热, 20-30 min;
2. 取处于对数生长期中期的细胞进行传代, 细胞密度 $3-4 \times 10^6$ cells/mL、活率 $\geq 95\%$;
3. 按 $0.3-0.5 \times 10^6$ cells/mL 传代, 取所需量的种子液至摇瓶中并添加所需体积的已预热的培养基;
4. 将摇瓶放入摇床中进行培养, 每 2-3 天用新鲜的培养基传代。

四、细胞驯化:

部分 293 细胞因长期适应原培养基, 需要经过一个简单的驯化过程来适应。(驯化前确保细胞处于对数生长中期且活率 $> 90\%$)

1、直接接种法

1.1、直接从原培养基接种到本培养基中, 接种密度参考传代步骤。

1.2、传几代后, 细胞密度在 D3 天内达到 3×10^6 cells/mL、活率 $\geq 95\%$, 可以认为细胞已被驯化成功。

注: 如果直接驯化效果不佳, 请尝试梯度驯化。

2、梯度驯化法

2.1、选择低代次的细胞, 用原培养基培养细胞, 并传代 2-3 代, 以实现稳定的细胞生长。

2.2、逐步调整本产品与原始培养基的比例 (25:75, 50:50, 75:25, 90:10, 0:100), 每个步骤视情况可多次传代。

2.3、在完全使用本产品传代, 细胞密度在 D3 天稳定达到 3×10^6 cells/mL, 活率 $\geq 90\%$ 。此时, 细胞已经驯化成功。

五、细胞冻存

1. 92% 293 细胞无血清培养基+8% DMSO 的混合液作为冷冻保存培养基, 2-8°C 避光保存;

2. 细胞计数, 计算所需的细胞体积, 建议冻存密度为 1×10^7 cells/mL;

3. 900 rpm 离心 5 min 收获细胞, 丢弃上清液, 用冷冻保存培养基重悬细胞;

4. 立即将细胞悬浮液分装到冻存管中, 程序降温后, 转移到液氮罐保存。注: 冷冻保存一周后, 可复苏一只检查活率及其它指标。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



六、转染和瞬时表达

建议通过 DOE 方法确定最佳转染条件及补料工艺，替换培养基时采用与对照一致的工艺，以下转染条件仅供参考：

VCD	2-4×10 ⁶ cells/mL
DNA	0.7-2 mg/L
DNA/PEI	1/2-1/6
补料：以下 4 种方案可选	
补料方案 1	转染后 D1，补 4-8% 补料 1a
补料方案 2	转染后 D1，补 4-8% 补料 1a，补 0.4-0.8% 补料 1b
补料方案 3	转染后 D1/3，补 4-8% 补料 1a
补料方案 4	转染后 D1/3，补 4-8% 补料 1a，补 0.4-0.8%补料 1b

转染具体操作过程：

		具体步骤
转染前	1	传代并扩增细胞，直至密度达到约 3-4×10 ⁶ cells/mL，活率≥95%。
	2	将步骤 1 中的细胞以 1-2×10 ⁶ cells/mL 的密度接种，使细胞生长过夜达到转染密度。
转染	3	细胞计数，记录密度、活率等数据。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。
	4	质粒 DNA 混匀后，用不含血清的 DMEM/无菌水（培养体积的 3-5%）稀释质粒 DNA。通过旋转和/或翻转试管混匀，约 5 min。
	5	PEI 混匀后，用不含血清的 DMEM/无菌水（培养体积 3-5%）稀释 PEI。通过旋转和/或翻转试管来混合，约 5 min。
	6	将稀释后的 PEI 加到稀释后的质粒 DNA 中。旋转和/或颠倒试管进行混合。在室温下孵育约 10-20 min。
	7	将 PEI-质粒缓慢添加至步骤 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。
	9	转染后 24/72 h 添加补料。
	10	在瞬时表达过程中，维持葡萄糖浓度在 4 g/L 以上。当细胞活率低于 60% 时收获细胞。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件：

4°C 保存，1 年有效。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

