

293 无血清培养基产品说明书

基本信息

货号	规格	有效期	外观	储存条件	运输条件
CMB0094	干粉-2 L	24 个月	干粉	2-8℃ 避光保存	常温

产品简介

293 无血清培养基是一种化学成分界定的培养基，培养基不含任何动物源成分、蛋白、水解物、酚红和 EDTA。可以应用于 HEK293 细胞悬浮培养，高效转染，重组蛋白表达等，并支持病毒载体的包装和扩增。

干粉配制

1. 配制用水应使用纯化水、超纯水或注射用水，配制过程中水温应控制在 20-30℃；
2. 于配制容器中加入 90% 配制体积的配制用水(如需配制 1L 则这里加 900mL 配制用水)，开启培养基配制容器的混合系统(建议混合系统单位体积输入功率大于 10W/m³)，充分搅拌，搅拌时应避免气泡的产生；
3. 根据所需配制体积称取粉末培养基 23.33g/L。将准确称的培养基干粉加入到步骤【2】的配制容器中，充分搅拌 20min 以上，直至粉末完全溶解；
4. 待溶液完全澄清后，根据配制体积，按照 2.20g/L 比例称取碳酸氢钠(分析纯)粉末，缓慢加入到步骤【3】的溶液中，继续搅拌 5-10min 至溶解；
5. 加配制用水将完全溶解的溶液精确定容至 100% 配制体积(如需配制 1L 则容至 1L)；
6. 测量 pH 值，必要时用 1mol/L 氢氧化钠溶液或 1mol/L 盐酸溶液调整 pH 值至 7.20-7.30；由于过滤会使培养基 pH 值稍微偏高，因此此处比目的 pH 值(7.20-7.40)要低一些；
7. 用孔径为 0.2μm 的滤膜正压过滤除菌(注意无菌操作)；
8. 过滤结束可以取少许液体培养基进行菌检，待合格后再使用；
9. 过滤后的培养基液体应立即使用或存放于玻璃瓶、培养基瓶(PET)或具有隔氧涂层的一次性储液袋中，2-8℃ 避光保存，此时液体培养基保质期为 1 年。

使用说明

细胞复苏

根据冻存管中的 HEK293 细胞数选择适当的复苏体系，使复苏培养的起始细胞密度控制在 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL。

1. 37℃ 水浴锅中预热培养基，同时快速解冻冻存管中的细胞（时间 < 1min）；
2. 培养基预热完成后，取 10ml 预热培养基加入无菌离心，100g 离心 5min，弃上清。再使用合适体积培养基重悬细胞至起始细胞密度范围，并转移到无菌培养摇瓶中，整个过程应避免剧烈操作；

3. 将细胞放入摇床中，培养条件：37℃，5%CO₂ 浓度，转速 80-120rpm（振幅 50mm）；
4. 定时检测细胞密度与活率；当细胞细胞密度达到 1-3×10⁶cells/ml 且活率达到 90%以上时进行细胞传代，传代密度 0.5×10⁶ 个 cells/ml（具体操作参考细胞传代详细步骤）。

注意：如果细胞密度达不到 1.0×10⁶ cells/mL，或活率低于 85%，则对细胞进行离心（100 g 离心 5min），用适量的新鲜培养基重悬沉淀的细胞至活细胞密度为 0.4-0.6×10⁶cells/mL，转移到适宜容器中继续培养；如果细胞密度达不到 1.0×10⁶ cells/mL，且活率低于 70%，则建议重新复苏一管低代次的细胞。

细胞传代

当细胞密度达到 2×10⁶ cell/ml 以上，活率>90%时，对细胞进行传代；

1. 提前准备预热的新鲜培养基，取适量预热培养基加入到摇瓶中
2. 按照下表建议传代密度计算所需细胞悬液体积；

生长时间	传代密度
传代后生长 3-4d	0.3-0.4×10 ⁶ cell/ml

3. 取所需体积的细胞悬液加入到适量预热新鲜培养基中，将摇瓶转移到摇床中，培养条件：37℃，5%CO₂ 浓度，转速 80-120rpm（振幅 50mm）
4. 定期检测细胞密度和活率，直到细胞密度和活率达到传代要求，重复步骤 1-3；

注意：建议对新复苏的细胞传代两次以上，待其从冻存损伤中彻底恢复后再进行转染、冻存等实验操作，细胞复苏后的使用代次建议为 30 代以内。

细胞冻存

选择处于对数生长期（一般为传代后第 3 天）且细胞活率在 90%以上的 HEK293 细胞直接用培养基+10%DMSO 进行冻存

1. 冻存液需现配现用，先取 45%新鲜培养液，再加入 10%DMSO，混匀放入 4℃冰箱中预冷；
2. 将需要冻存的细胞悬液转移到离心管中进行离心（100 g 离心 5min），保留 45%上清并重悬细胞，逐滴加入预冷的冻存液并轻轻混匀，最终的活细胞冻存密度为 5-10×10⁶ cells/mL；
3. 将混匀的细胞分装到冻存管，将细胞冻存管放到事先预冷（4℃过夜）的程序降温冻存盒中，置于-80℃冰箱过夜；长期存放需转移到液氮罐中。

注意事项

1. 在整个使用过程中，务必注意无菌操作，避免污染；
2. 为保持本产品的最佳使用效果，请勿进行冻融处理；
3. 本产品仅用于科研或进一步研究使用，不用于诊断和治疗。