

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
CMB0097	500ml	12 个月	液体	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。

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 $1-3 \times 10^6$ cells/ml 且活率达到 90% 以上时进行细胞传代，传代密度 0.5×10^6 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 1.0×10^6 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 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL，转移到适宜容器中继续培养；如果细胞密度达不到 1.0×10^6 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 2×10^6 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	$0.3-0.4 \times 10^6$ 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°C, 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°C 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 $5-10 \times 10^6$ 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°C 过夜) 的程序降温冻存盒中, 置于 -80°C 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。