

293 Medium

化学成分确定培养基

产品内容		
NG-CM1037	293 Medium 化学成分确定培养基	1000ML
	使用说明书	1 份

01/产品简介

293 Medium 化学成分确定培养基可实现 HEK293 细胞的高效瞬时转染和蛋白表达。该产品含有 L-丙氨酰-L-谷氨酰胺、碳酸氢钠、氨基酸、维生素、微量元素、泊洛沙姆 F-68 等成分。作为无血清、无抗生素、无动物源的化学成分确定培养基，该产品适用于 HEK293 系列细胞的悬浮培养以及瞬时化学转染，将此培养基于 293 补料联合使用，可实现细胞的长期培养，并提供更高的蛋白质产量。

02/储存条件

2-8℃ 避光贮存，有效期 12 个月。

03/应用范围

293 Medium 培养基可用于科研应用，广泛适用于 HEK293 系列细胞的悬浮培养以及瞬时化学转染，但不可直接作用于人体或作为药物使用。

04/使用方法

1、细胞培养条件

温度 37℃,湿度 80% , 5-8%CO₂

摇床设置: 转速 115-125rpm (振幅 50mm)

2、细胞复苏

- ① 提前取出该产品置于室温或 37℃水浴预热 20-30min;
- ② 将冷冻细胞置于 37℃水浴中快速融化;
- ③ 用移液枪将细胞液全部转移至含有 20-25 mL 的 293 Medium 培养基中，置于相应的培养条件下复苏培养。

3、细胞传代

- ① 提前取出该产品置于室温或 37℃水浴预热 20-30min;
- ② 取细胞密度 $\geq 3 \times 10^6$ - 4×10^6 cells/mL、细胞活性 $\geq 95\%$ 、处于对数生长期中期的细胞进行传代（需根据不同类型的 HEK293 细胞调整对数生长范围）;
- ③ 推荐接种密度: 0.5×10^6 - 1×10^6 cells/mL;

- ④取适量待传代细胞添加至已预热的 293 Medium 培养基中，将细胞转移至合适的培养条件下进行培养。

4、转染和瞬时表达

- ① 质粒稀释液制备：将适量质粒加入 293 Medium 中，混合均匀，静置 5min，质粒稀释液体积建议为总体积的 2.5%-5%；
- ② 转染试剂稀释液制备：将适量转染试剂加入 293 CD01 Medium 中，充分混合均匀，静置 5min，转染试剂稀释液体积建议为总体积的 2.5%-5%；
- ③ 质粒-转染试剂复合物制备：将转染试剂稀释液逐滴加入质粒稀释液中，充分混合均匀后室温下孵育 15min，充分反应形成转染混合液；
- ④ 将孵育好的质粒-转染试剂复合物逐滴缓慢加入培养好的待转染细胞中，边加边轻轻摇动摇瓶，并置于相应条件下继续培养；
- ⑤ 转染 22-24 小时后，向摇瓶中添加 5% (v/v) 293 Medium 培养基补料，在添加过程中轻轻晃动摇瓶，将摇瓶放回 37°C 培养箱继续培养；
- ⑥ 在瞬时表达过程（一般转染后的 2-7 天）中，维持葡萄糖浓度在 4g/L 以上。当细胞活性低于 60% 时收获细胞。

05/注意事项

- 1、为保障转染效率，请使用高纯度、无内毒素的质粒。
- 2、为了保护您的安全与健康，实验中请全程穿戴好实验服和一次性手套，并注意通风橱操作。

表 1 各组分推荐使用方法，以 20mL 转染体系举例（转染试剂 Polysciences PEI）

细胞密度	2.5-3.5×10 ⁶ cells/mL			
转染体系	20mL			
制备 PEI/质粒混合物				
DNA 稀释	293 Medium	初始转染体积的 3%	600μL	静置 5min
	DNA	1μg /mL	20μg	
转染试剂稀释	293 Medium	初始转染体积的 3%	600μL	静置 5min
	转染试剂	DNA:转染试剂 (1： 3)	60μg	
PEI/质粒混合物孵育时间		15min		
补料		转染 22-24 小时后，添加 5%（v/v）培养基补料		