

名称：293系列细胞专用培养基

货号：ZQ-1335

## 产品描述

293s 培养基适用于悬浮培养条件下的293系列细胞(如293-F,293-T, Expi-293F 等) 的高密度生长和瞬时转染表达。293s 培养基含有细胞生长所需的全部营养成份，无需添加任何添加物即可使用。(注意：此培养基不包含抗生素以及血清)

## 产品特点

- ☐ 瞬时转染专用培养基，适用于293系列细胞高密度悬浮培养
- ☐ 无蛋白、无动物源、化学成分限定
- ☐ 即用型完全培养基,无需添加额外成分

## 基础参数

|                                      |
|--------------------------------------|
| <b>外观：</b> 澄清透明红色液体                  |
| <b>渗透压：</b> 275±15 mOSM              |
| <b>pH:</b> 6.9-7.4                   |
| <b>无菌检测:</b> 无菌                      |
| <b>内毒素：</b> <5 EU/mL                 |
| <b>储存条件：</b> 2-8℃，避光                 |
| <b>效期：</b> 12个月                      |
| <b>产品用途：</b> 仅用于科学研究，不适用于人类或动物的诊断和治疗 |

## 产品使用方法

### 细胞驯化

#### 1) 直接驯化

大部分情况下，培养于其他培养基中的细胞，可以直接适应293s medium，只要按照日常传代方式(稀释)更换培养基即可。

#### 2) 渐进式驯化

### 注意：选用低代次、处于对数生长期的细胞进行驯化

①在原培养基中复苏细胞并继续使用该培养基传代2到3次至细胞生长稳定，当细胞密度达到  $2 \times 10^6$  cells/ml后进行传代，传代细胞密度控制在  $0.5-0.6 \times 10^6$  cells/mL，5-10%血清的传统培养基或其他无血清培养基与293s培养基的比例为75:25；

②将细胞置于37℃， 5% CO<sub>2</sub>， 转速为110- 175 rpm的恒温摇床中进行培养；

③当细胞密度3-4天后达到 $3 \times 10^6$  cells/ml且细胞活率>90%， 传代时5-10%血清的传统培养基或 其他无血清培养基与293s培养基的比例为50:50， 细胞密度控制在 $0.5 \times 10^6$  cells/mL。

如细胞生长慢，可离心上清，留20%条件培养基，加入80%的5- 10%血清的传统培养基或其他无血清培养基与293s 培养基比例为75:25的混合培养基，继续培养；④重复步骤③逐步增加293s培养基所占的比例(5-10%血清的传统培养基或其他无血清培养基与293s 培养基的比例为25:75至10:90)直到100%的293s 培养基；

⑤经过在100%的 293s 培养基中的几次传代培养，传代后3-4天细胞的密度可以达到 $2-3 \times 10^6$  cells/mL，细胞活率大于90%，这说明细胞已经完全适应了293s 培养基。之后进行细胞的传代培养时， 细胞的起始密度可以降到 $0.3 \times 10^6$  cells/mL，一般传代2-3次后再 进行转染实验。

**注意：**一般细胞驯化过程中，前三代细胞的状态可能不是很好，但一般从第四代开始状态会有改善

## 细胞传代

1) 取细胞培养样品，人工或仪器测定细胞密度以及活率；

2) 计算传代所需的细胞用量，建议起始细胞密度为 $0.2-0.4 \times 10^6$  cells/mL。建议复苏的细胞至少培养两代后再用于其他用途。传代培养体积建议为15-20 mL（100 mL的培养瓶）或50-60 mL（250 mL 的培养瓶）；

3) 将细胞置于37℃， 5%CO<sub>2</sub>， 转速为110- 175 rpm的恒温摇床中进行培养， 3-4天传代一次。

细胞转染在293s培养基中，采用商业化转染试剂(例如 Gibco 293Fectin™

ExpiFectamine™ 293 Transfection Kit )或 PEI 可以实现对293系列 细胞的高效转染。

## 细胞复苏

- 1) 迅速取出冻存的细胞，在37℃水浴条件下进行解冻(可以在水中轻轻晃动，时间控制在60s以内)；
- 2) 轻轻地混匀细胞并将融化的细胞全部移至15mL无菌离心管中，逐滴加入10 mL预热到37℃的培养基，离心换液(100 g，5 min)去除全部上清，加入新鲜培养基重悬，使得细胞密度达到 $0.4-0.6 \times 10^6$  cells/mL；
- 3) 将细胞置于37℃，5%CO<sub>2</sub>，转速为110-175 rpm的恒温摇床中进行培养；
- 4) 2-4天后通过人工或仪器测定细胞的密度以及活率，如果细胞密度达到 $1.0 \times 10^6$  cells/mL，活率达到85%以上则可进行传代培养；
- 5) 如果细胞密度低于 $1.0 \times 10^6$  cells/mL，则建议对细胞进行离心(100 g，5 min)，然后重悬于20-30 mL的新鲜培养基中使得细胞密度为 $0.4-0.6 \times 10^6$  cells/mL左右，并继续培养至细胞正常生长则可进行传代培养。

## 细胞冻存

- 1) 冻存细胞时，要选择处于对数生长期同时细胞活率在90%以上的293系列 cells；
- 2) 事先计算好冻存的细胞管数和所用的培养基的体积；
- 3) 制备细胞冻存液：46.25% 的新鲜293s培养基+46.25% 条件293s 培养基，混合之后再加入7.5% DMSO，存放在4℃，一般为当天用当天制备；
- 4) 对细胞样品进行计数；
- 5) 取样计数，以100g，3-5 min的条件离心收集细胞，然后用冻存培养基(4℃)重悬细胞，使得细胞密度为  $5-10 \times 10^6$  cells/mL；
- 6) 取样计数，调整细胞密度；迅速分装细胞到无菌的冻存管中，一般2 mL 的冻存管放1-1.5 mL，贴好标签，密封；
- 7) 将细胞冻存管放到程序降温冻存盒(注意填充异丙醇，4℃预冷)中，置于-80℃ 冰箱(每分钟下降1℃)，过夜存放后将细胞转入液氮罐中进行保存。