

SMM 293-TII 培养基



HEK293 细胞, 无血清, 含谷氨酰胺, 完全培养基

货号: M293TII

产品描述

SMM 293-TII 培养基是专门用于 HEK293 细胞悬浮培养和瞬时转染表达目标分子的培养基, 含有谷氨酰胺、HEPES、碳酸氢钠、氨基酸、维生素、酚红、微量元素、Pluronic® F-68。产品无血清, 无抗生素, 无动物源性组分, 有利于建立稳定的 HEK293 细胞表达系统。在转染后的表达阶段同时配套使用加料液 SMS 293-SUPI 能够实现细胞的长时间培养, 获得更高的蛋白产量。

产品名称	货号	规格	保存条件	有效期	适用细胞
SMM 293-TII 培养基	M293TII	1000 mL	2-8 °C; 避光保存	见瓶签使用截止时间	HEK293 悬浮细胞

基础参数

外观	澄清红色溶液	内毒素	<10 EU/mL
渗透压	260-300 mOsm/kg	pH	6.9-7.4
无菌检测	无菌	培养检测	正常
保质期	6 个月	适用范围	HEK293 (293F, 293E, 293H, 293FT, 293S) 悬浮细胞
储存条件	2-8 °C, 避光	细胞接种密度	0.3-0.4 × 10 ⁶ cells/mL

*保质期从生产日期算起, 使用过程中请勿反复预热培养基。

产品特点:

- 专用于 HEK293 细胞的悬浮培养与高效的瞬时转染表达
- 无动物源组分, 无血清, 无抗生素
- 转染前后无需更换培养基
- 质控严格, 效果稳定

培养条件

- 培养基: SMM 293-TII 培养基
- 细胞株: HEK293 (293F, 293E, 293H, 293FT, 293S)
- 培养方式: 悬浮培养
- 培养体系: 摇瓶、反应器
- 培养温度范围: 36.5 °C-37 °C
- 其他条件: 5-10% CO₂, 确保气体交换, 尽量减少光照。

细胞转染与目标分子表达:

以 20 mL 培养体系 (100 mL 培养瓶) 举例如下:

1. 材料准备:
 - 新鲜的 SMM 293-TII 培养基
 - 转染试剂 (义翘神州 Sinofection, 货号 STF02)
 - 携带目标分子基因的质粒 DNA
 - 150 mM NaCl (无菌过滤, 用于制备转染复合物)
 - 处在对数生长期且活率高于 90% 的 HEK293 细胞
2. 转染前一天, 取样计数细胞密度, 计算细胞活率;
3. 以 2 × 10⁶ cells/mL 的密度将细胞密度接种到新鲜培养基中, 置于 37 °C, 5% CO₂, 150-175 rpm 转速的恒温摇床中培养;
4. 转染当天, 取样计数细胞密度和活率。细胞密度应该在 3-5 × 10⁶ cells/mL, 活率高于 90%。调整细胞密度至 3 × 10⁶ cells/mL, 每瓶细胞液体积为 20 mL;
5. 转染液的配制:

- 用 150 mM 的 NaCl 稀释 20 μg DNA 至总体积为 0.5 mL, 温和混匀;
 - 用 150 mM 的 NaCl 稀释 100 μL Sinofection 转染试剂至总体积为 0.5 mL, 温和混匀;
 - 将稀释好的 DNA 和转染试剂同时单独静置约 5 分钟后温和混匀, 总体积 1 mL, 之后室温静置 10 分钟。
6. 将转染液逐滴加入到细胞培养液中, 滴加的同时轻轻摇动培养瓶, 摇匀后放回摇床继续培养, 关闭摇床 CO₂ (即不再向摇床内通入 CO₂);
 7. 转染 24 小时后旋松瓶口以满足后续细胞高密度生长的溶氧以及 CO₂ 排放需求, 防止因 CO₂ 积累影响细胞生长。
 8. 转染后 48-72 小时可用适当方法检测目的基因的表达。若需进行重组蛋白、抗体的长期表达生产, 可以在转染后第 24 小时加入 0.7 mL SMS 293-SUPI 加料液, 此后每隔 48 小时添加一次加料液 (0.7 mL), 根据不同蛋白的表达特性最长可以在转染后 6-10 天收样。

注意: 加料液的用量可以根据不同蛋白的表达差异进行优化。

细胞复苏

根据冻存的 HEK293 细胞密度选择适当的复苏体积, 使复苏培养的起始细胞密度控制在 0.4-0.6 × 10⁶ cells/mL。以 100 mL 培养瓶 (20 mL 体系, 冻存管中细胞数量为 1 × 10⁷ cells) 举例说明如下:

1. 迅速取出冻存的 HEK293 细胞, 在 37 °C 水浴解冻 (可以在水中轻轻晃动, 时间控制在 1 分钟内);
 2. 使用 75% 酒精对冻存管表面进行消毒; 向 100 mL 培养瓶中加入 20 mL 预热的新鲜 SMM 293-TII 培养基, 将融化的细胞全部转入培养瓶中, 轻轻摇动培养瓶混匀细胞。由于刚复苏的细胞比较脆弱, 所以整个过程应避免剧烈操作且无需离心细胞;
 3. 将重悬好的细胞置于 37 °C, 5% CO₂, 150-175 rpm 转速的恒温摇床中培养;
 4. 检测培养 3-5 天内的细胞密度以及活率数据, 正常情况下复苏细胞培养 3 天后的密度将达到 1.0 × 10⁶ cells/mL 以上, 此时可用于正常传代培养。
- 注意:** (1) 若冻存管中的细胞数量较少 (5 × 10⁶ cells), 可以选择用 50 mL 离心管进行复苏, 摇床转速为 175-200 rpm; (2) 若细胞在培养 5 天后仍无法达到 1.0 × 10⁶ cells/mL, 建议离心细胞, 将离心得到的培养基上清和新鲜培养基 1:1 混合后用于离心细胞的培养基, 起始细胞密度为 0.4-0.6 × 10⁶ cells/mL。

细胞传代

细胞传代所用的 SMM 293-TII 培养基体积为培养容器体积的 10-30%。

1. 计数细胞，计算细胞密度和细胞活率；
2. 将细胞以 $0.3-0.4 \times 10^6$ cells/mL 的起始密度接种到新鲜 SMM 293-TII 培养基中；
3. 将培养瓶置于 37°C ，5% CO_2 ，150-175 rpm 转速的恒温摇床中培养；
4. 传代培养 3-4 天后，活细胞密度一般能达到 3×10^6 cells/mL 以上，且活率大于 90%。

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，复苏后的细胞使用代数建议为 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 细胞用冻存液（46.25% 的细胞培养上清 + 46.25% 新鲜培养基 + 7.5% DMSO）进行冻存，最终的活细胞冻存密度为 $5-10 \times 10^6$ cells/mL。操作步骤如下：

1. 计数细胞，根据细胞数量计算所需的冻存体积；
2. 将 46.25% 冻存体积的新鲜 SMM 293-TII 培养基和 7.5% 冻存体积的 DMSO 混匀配制好后置于 4°C 冰箱备用；
3. 离心适量细胞（100 g 离心 5 分钟）后保留 46.25% 冻存体积的上清并重悬细胞，然后逐滴加入配制好的细胞冻存液；
4. 混匀细胞并将其至冻存管中，每管 1 mL 细胞。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（程序降温盒每分钟下降 1°C ）内过夜；
5. 如需长期存放，可以转移到液氮罐中。

注意：冻存前一天，检查冻存盒夹套中的异丙醇液位合格，放在 4°C 冰箱预冷。冻存操作 24 小时后可以抽样复苏 -80°C 冰箱或者液氮中的冻存细胞，从而检测细胞的冻存效果。

细胞驯化

一般情况下，SMM 293-TII 培养基可直接替换其他品牌的低血清或无血清培养基，用于 HEK293 细胞的正常培养以及瞬时转染表达目标分子。如果直接更换培养基（直接驯化）失败，则推荐采用逐步替换（间接驯化）的方法使 HEK293 细胞能更好地适应 SMM 293-TII 培养基。

注意：用于驯化的 HEK293 细胞需要处于对数生长期，且活率在 90% 以上，这两个条件在培养基替换操作中至关重要。

（一）直接驯化

以 20 mL 培养体系（100 mL 摇瓶）举例如下：

1. 以 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL 的接种密度将 HEK293 细胞传代至 20 mL 的新鲜 SMM 293-TII 培养基中（参看细胞传代步骤）；
2. 将培养瓶置于 37°C ，5% CO_2 ，150-175 rpm 转速的恒温摇床中培养；
3. 培养 3-4 天后，检测细胞密度以及活率。正常情况下，此时的细胞活率应在 70% 以上。如果活率低于 60% 则需要更换驯化的细胞，或者采用间接驯化的方法进行培养基替换；

4. 继续传代 3-4 次，若培养 3-4 天后的细胞密度达到 $2-3 \times 10^6$ cells/mL，且活率在 90% 以上，则驯化操作成功，后续可以进行正常的细胞传代、转染和冻存。

（二）间接驯化






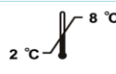


1. 计数驯化前的细胞，用原培养基（其他无血清培养基或加有 5-10% 血清的传统培养基）调整 HEK293 细胞密度至 $0.5-0.8 \times 10^6$ cells/mL，加入 25% 体积的 SMM 293-TII 培养基，使得最终细胞密度为 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL，此时原培养基与 SMM 293-TII 培养基的比例为 75:25；
2. 将细胞置于 37°C ，5% CO_2 ，转速为 150-175 rpm 的恒温摇床中进行培养；
3. 培养细胞 3-4 天后进行传代，传代的起始细胞密度仍为 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL。

（1）如果细胞生长状态良好，且活率 > 90% 则传代时原培养基与 SMM 293-TII 培养基的比例为 50:50；

（2）如果细胞生长缓慢，可离心细胞培养液，留 20% 条件培养基（即细胞离心后的培养基上清液）并加入 80% 的混合培养基进行传代培养。此时的混合培养基依旧为原培养基与 SMM 293-TII 培养基以 75:25 比例混合后的培养基；

4. 重复步骤 3 并逐步增加 SMM 293-TII 培养基所占的比例（原培养基与 SMM 293-TII 培养基的比例为 25:75 至 10:90）直到使用 100% 的 SMM 293-TII 培养基进行细胞培养；
 5. 在 100% 的 SMM 293-TII 培养基中继续传代培养 2-3 代，若在传代后 3-4 天时细胞的密度达到 $2-3 \times 10^6$ cells/mL，且细胞活率在 90% 以上，则说明细胞已经完全适应了 SMM 293-TII 培养基，可以进行正常的细胞传代、转染和冻存。
- 注意：**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。

标识说明

 货号	 批次号	 有效期	 瓶号
 仅用于科研	 2°C - 8°C 2-8 $^\circ\text{C}$ 存放	 避光保存	 无菌检测合格

联系我们

- 公司微信公众号：北京义翘神州(yiqiaoshenzhou)
- 电话：400-890-9989
- 企业 QQ：4008909989
- 传真：+86-10-5862-8220
- 网站：<http://cn.sinobiological.com/>
- 邮箱：order@sinobiological.com
- 地址：北京市经济技术开发区亦庄路东区科创七街 31 号院
- 邮编：100176