

MetaCell™ HEK293 Transfectory瞬时表达系统

操作指南

产品简介:

MetaCell™ HEK293 Transfectory瞬时表达系统是为高效瞬转转染HEK293细胞而设计的培养基、补料与转染试剂的优化配套组合，支持HEK293细胞特别是293F的高密度生长和维持，适用于高效蛋白表达和各种病毒载体生产，培养基与补料均为化学成分确定（chemically defined），不含动物源成分。培养基成分经过高度优化，兼容商业化阳离子转染试剂。

MetaCell™ HEK293 Transfectory瞬时表达系统:

产品名称	描述
MetaCell™ HEK293-100	专为Expi293F等常用HEK293细胞的高效瞬时转染而设计，化学成分确定，含谷氨酰胺衍生物
MetaCell™ 293 TransFeed	高度浓缩的补料，化学成分确定
MetaCell™ PEI 40K	速溶型的PEI 40K

产品名称	描述
FectoVIR-AAV® Transfection Reagent	一种全化学合成、不含动物源的阳离子型聚合物转染试剂，专为悬浮细胞体系规模化生产AAV而开发

细胞复苏、驯化、传代和冻存:

均可参考MetaCell™ HEK293-100 的使用说明书

VCD: $2.0-4.0 \times 10^6$ cells/mL, 活率 $\geq 95\%$

DNA: 1.0-2.0 ug/mL

转染和瞬时表达:

最佳转染条件应根据具体情况进行优化，并可能需要通过DoE实验确定，以下通用转染条件和方法仅供参考：

PEI: 2.0-7.5 ug/mL

下面以PEI和FectoVIR-AAV®为例，详细介绍下转染和表达的操作。

MetaCell™ HEK293 -100 转染指南 – PEI

培养基及试剂:

- MetaCell™ HEK293-100
- MetaCell™ 293 TransFeed
- MetaCell™ PEI 40K
- 质粒: 260/280比值于1.8-2.0, 浓度大于1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
- 稀释液: MetaCell™ HEK293-100

细胞:

无血清悬浮培养的HEK293细胞株

1. 于细胞转染前3天接种 5.0×10^5 cells/mL活细胞密度。或可于转染前18-24小时以 $2.0-2.5 \times 10^6$ cells/mL的活细胞密度接种细胞。

注: 可通过离心换液的方法接种细胞。

2. 转染当天, 活细胞密度应达到 $4.0-6.0 \times 10^6$ cells/mL, 活率 $\geq 95\%$ 方可进行转染。用新鲜预热的培养基调整活细

胞密度为 3.0×10^6 cells/mL，摇晃培养瓶以混匀细胞。

转染:

1. 准备Reagent-DNA混合物

- (1) 准备1支无菌离心管，加入最终培养体积10%的稀释液备用。

注：无菌离心管容量需大于最终培养基体积 1.5 倍以提供混合空间。

- (2) 将DNA加入含稀释液的管中混匀。
- (3) 将MetaCell™ PEI 40K加入含稀释DNA的管中即时混匀（漩涡震荡5秒并上下颠倒10次混匀）。
- (4) 将Reagent-DNA混合物于室温静置15-20分钟。

2. 转染

将孵育完成的Reagent-DNA混合物加入摇瓶。滴加时，轻轻晃动摇瓶以提升细胞悬液和转染混合物的混匀。

3. 培养和收获

- (1) 对于蛋白表达：建议在转染后 16-22 小时添加起始培养体积 5% (v/v) 的MetaCell™ 293 TransFeed。
- (2) 转染后第2天开始监测细胞生长和代谢数据，并维持葡萄糖含量在4g/L以上。如无监测，请于转染后第2天及第4天添加4-6g/L葡萄糖。
- (3) 蛋白表达的峰值是转染后的5-7天。当细胞活率低于60%时便可停止培养并收获。

4. 转染条件建议：以1mL转染体系为例

DNA使用量	MetaCell™ PEI 40K 使用量	稀释液使用量
1.5-2.0 µg	4.5-7.5 µL	0.1 mL
推荐值: 1.5 µg	推荐值: 6 µL	推荐值: 0.1 mL

MetaCell™ HEK293-100 AAV转染指南 – FectoVIR-AAV®

培养基及试剂:

- MetaCell™ HEK293-100
- FectoVIR-AAV® Transfection Reagent (PolyPlus, Ref# 120-101)
- 质粒载体: 260/280比值于1.8-2.0，浓度大于1 µg/µL
- 稀释液: MetaCell™ HEK293-100。

注：FectoVIR-AAV® Transfection Reagent建议培养基不含Poloxamer 188及抗生素，MetaCell™ HEK293-100成份已经优化过，兼容各种阳离子转染试剂。

细胞:

无血清悬浮培养的HEK293细胞株:

1. 于细胞转染前3天接种 5.0×10^5 cells/mL活细胞密度。或可于转染前18-24小时以 $2.0-2.5 \times 10^6$ cells/mL的活细胞密度接种细胞。

注：可利用离心换液的方法接种细胞。

2. 转染当天，活细胞密度应达到 $4.0-6.0 \times 10^6$ cells/mL，活率 $\geq 95\%$ 方可进行转染。用新鲜预热过的培养基调整活细胞密度为 3.0×10^6 cells/mL，摇晃培养瓶以混匀细胞。

转染:

1. 准备Reagent-DNA混合物

- (1) 准备1支无菌离心管，加入最终培养体积5%的稀释液备用。

注：无菌离心管容量需大于最终培养基体积 1.5 倍以提供混合空间。

- (2) 将DNA加入含稀释液的管中混匀。
- (3) 将FectoVIR-AAV® Transfection Reagent加入含稀释DNA的管中即时混匀（温和上下颠倒8-10次混匀）。
- (4) 将Reagent-DNA混合物于室温静置30分钟。

2. 转染

将孵育完成的Reagent-DNA混合物均匀加入细胞。滴加时，轻轻晃动摇瓶以提升细胞悬液和转染混合物的混匀。

3. 培养和收获

包装AAV时，可于转染64-72h后进行病毒收获。

4. 三质粒包装AAV - 载体比例建议：以4 µg 总DNA量的1mL转染体系为例

Expression vector	µg DNA/mL culture
Rep/Cap plasmid	1.6
Helper plasmid	0.8
AAV-ITR plasmid	1.6

5. 转染条件建议：以1mL转染体系为例

DNA使用量	FectoVIR-AAV使用量	稀释液使用量
推荐值: 4 µg	推荐值: 3 µL	推荐值: 0.05 mL

订购信息：

产品名称	类别	形态	目录号	包装规格
MetaCell™ HEK293-100	培养基	液体	L2000-1000	1000mL
		干粉	P2000-X020	20L
			P2000-X100	100L
MetaCell™ 293 TransFeed	补料	液体	L2004-0100	100mL
			L2004-0500	500mL
			L2004-1000	1000mL



www.cellplusbio.com

地址：江苏省苏州市高新区大同路20号A3幢

电话：0512-67332699

邮箱：Service@cellplusbio.com