

# MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100

## 化学成分确定培养基

### 产品简介

MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100是为高效瞬时转染HEK293细胞而设计的化学成分确定培养基，不含水解物、蛋白质和任何动物源成分，可支持各种HEK293细胞特别是293F细胞的高密度生长、瞬时转染和维持，兼容各种商业化阳离子转染试剂。推荐与MetaCell<sup>®</sup> 293 TransFeed High Glucose搭配使用。

MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100适用于科研和基于细胞培养的大规模生物制品的生产，但不可直接用于人体或作为药物用。

MetaCell<sup>®</sup> HEK293 -100已含有4mM谷氨酰胺衍生物。

产品名称	形态	产品编码	包装规格	储存条件	有效期	推荐使用范围
MetaCell <sup>®</sup> HEK293-100	液体	L2000-0500	500mL	2-8°C, 密闭、避光	12个月 (暂定)	HEK293细胞瞬时转染 (蛋白或病毒表达)
		L2000-1000	1000mL			

### 培养条件

培养基: MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100

培养类型: 悬浮

细胞系: Expi293F<sup>™</sup>, FreeStyle<sup>™</sup> 293-F, 293F, VPC2.0

培养参数设置:

摇瓶体积	125mL	250mL	500mL	1L	3L	5L
培养体积 (mL)	30-35	60-70	120-140	240-280	600-1000	1500-2000
摇床转速	125±5 rpm (振幅 19mm) 120± 5 rpm (振幅 25mm) 95±5 rpm (振幅 50mm)				105±5 rpm 95±5 rpm 80±5 rpm	
摇瓶类型	PETG 或者 PC 材质, 透气, 无挡板					
培养环境	37±0.5 °C, 8% CO <sub>2</sub> , 湿度≥80%, 确保适当的气体交换并尽量避光培养					

### 细胞复苏

1. 干冰运输的细胞应放置在液氮环境下3-7天后再进行细胞复苏。
2. 提前取39mL MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100 于125mL摇瓶中37°C预热。
3. 从液氮罐中取出一支冻存细胞，置37 °C水浴锅中，水浴1-2分钟，注意观察冻存管里细胞冰块状态。
4. 15mL离心管里添加9mL预热的MetaCell<sup>™</sup> HEK293-100，将复融后的细胞转移至其中混匀。
5. 1000rpm离心4分钟后，弃上清，使用已预热的MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100 重悬细胞，然后全部转移至125mL摇瓶中，最终培养体积为30mL。混匀后取样测定细胞的密度和活率，细胞密度范围应该在0.3-0.4 x 10<sup>6</sup> cells/mL。

注：通常细胞的活率会在解冻后24h内略有下降，培养3-4天后，会逐渐恢复到90%以上。

6. 建议的摇床培养参数37°C, 8% CO<sub>2</sub>, 95±5 rpm (振幅50mm)。
7. 培养3-4天后, 当细胞密度≥3.0 × 10<sup>6</sup> cells/mL 且活率 ≥90%时传代。

注: 若细胞复苏2-3代后, 细胞生长状态正常, 活率≥95%, 应尽快安排冻存。

### 细胞传代

1. 提前将MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100放入37 °C条件下预热20-30分钟。
2. 当细胞密度达到3.0-4.0×10<sup>6</sup> cells/mL 且细胞活率≥95% (2-4天) 时, 即可进行传代培养。

注: 不同类型的HEK293细胞可能具有不同的对数生长期范围, 需根据实际情况确定传代时间, 以保持细胞传代培养时处于对数生长期的早期。

3. 推荐的细胞接种密度0.4-0.6×10<sup>6</sup> cells/mL。
4. 无菌转移所需的种子液至摇瓶中, 并添加适量的已预热MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100, 参考培养条件设置摇床参数, 每2-4天用新鲜培养基按上述步骤进行传代培养。
5. 细胞解冻复苏后至少传代三次以上, 待细胞生长状态稳定后方可进行后续转染或冻存等实验。

### 细胞冻存

1. 准备好足量的处于对数生长早期且细胞活率≥95%的细胞作为冻存用细胞。
2. 最终的细胞冻存密度应控制在10.0-15.0x 10<sup>6</sup> cells/mL。
3. 提前配制冻存液 (90% MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100 +10% DMSO) , 2-8 °C预冷30分钟备用。
4. 取适量细胞悬液, 1000rpm离心4分钟, 弃上清, 用2-8 °C预冷的冻存液重悬后, 按照冻存规格, 立即将细胞悬液分装至冻存管中。
5. 通过程序降温或人工控制等方式将细胞逐步降温至-80°C冷冻状态 (降温速率为1°C/分钟)。
6. 24小时后将完成冷冻的细胞转移至液氮储罐气相中 (储存温度范围: -200°C至-125°C) 储藏。

### 细胞驯化

大多数情况下, 无血清培养的HEK293细胞可以直接适应MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100, 如果直接更换培养基 (直接驯化) 失败, 则推荐采用梯度替换 (间接驯化) 的方法使HEK293细胞适应MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100。

注: 用于驯化的HEK293细胞需要处于对数生长期的早期, 且活率≥95%。

#### • 直接驯化法

1. 对于可以直接驯化的细胞, 当细胞活率≥95%且处于对数生长早期时, 可尝试直接从无血清培养基接种到MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100中。
2. 以0.4-0.6×10<sup>6</sup> cells/mL 的接种密度将 HEK293 细胞接种至新鲜的MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100中 (参看细胞传代步骤)。
3. 培养3-4天后, 检测细胞密度以及活率, 此时细胞活率应≥95%, 如果活率较低, 则需要更换驯化的细胞或采用间接驯化法。
4. 继续传代3-4次, 当细胞密度在接种的3-4天内达到 3.0-4.0 × 10<sup>6</sup> cells/mL 且细胞活率≥95%时, 可认为驯化完成, 后续可进行正常的细胞传代、转染和冻存。

#### • 间接驯化法

1. 用原培养基调整待驯化细胞的密度至0.5-0.8 × 10<sup>6</sup> cells/mL, 加入25%体积的MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100, 使得最终细胞密度为0.4-0.6 × 10<sup>6</sup> cells/mL。

- 培养3-4天后传代，传代的起始密度仍为 $0.4-0.6 \times 10^6$  cells/mL，
  - 如细胞生长状态良好，且活率 $\geq 90\%$ ，则传代时调整原培养基与MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100 的比例为50:50;
  - 如细胞生长缓慢，可对细胞进行离心换液，离心条件为1000rpm，4分钟。此时的混合培养基依旧为原培养基和MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100 以75:25比例混合。
- 重复步骤2并逐渐增加MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100 所占的比例（推荐比例 50:50，25:75），直到使用100%的MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100 进行细胞培养。
- 在100%的MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100 中继续培养3-5代，当细胞密度在接种的3-4天内达到 $3.0-4.0 \times 10^6$  cells/mL且细胞活率 $\geq 95\%$ 时，可认为驯化完。
- 驯化完成后至少传代三次以上，待细胞生长状态稳定后方可进行后续转染或冻存实验。

### 细胞转染

- 在细胞转染测试开始前，细胞应完全适应MetaCell<sup>®</sup> HEK293-100，并且以常用的接种密度传代培养。
- 于转染前3天接种 $5.0 \times 10^5$  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。
- 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。
- 具体转染操作请参考思鹏生物HEK293瞬时表达系统操作指南。

### 相关产品订购信息：

产品	类别	形态	目录号	包装规格
MetaCell <sup>®</sup> HEK293-100	培养基	液体	L2000-0500	500mL
			L2000-1000	1000mL
		干粉	P2000-X010	10L
		干粉	P2000-X100	100L
MetaCell <sup>®</sup> 293 TransFeed High Glucose	补料	液体	L2009-0100	100mL
			L2009-1000	1000mL
MetaCell <sup>®</sup> Titer Enhancer	添加剂	液体	L1009-0010	10mL
			L1009-0100	100mL



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