

AMMS[®]HEK293 无血清培养基说明书

说明书编号: DS-MED-AS11-A/0

产品名称

通用名称: AMMS[®]HEK293 无血清培养基英文名称: AMMS[®]HEK293 Serum-free Medium

产品信息

货号: AS-11

规格: 1000mL

保存条件: 2~8°C, 避光保存

有效期: 12 个月

性状: 液体

适用范围: HEK293 类细胞悬浮培养和转染

产品描述

AMMS[®] HEK293 无血清培养基是一款用于 HEK293 类细胞悬浮培养和转染过程的无血清、无蛋白、无动物源的化学成分限定培养基。产品中含有 HEPES、碳酸氢钠、氨基酸、维生素、酚红、微量元素、F-68 等有利于 HEK293 类细胞生长和表达的组分。产品在使用前需加入 L-谷氨酰胺一起使用。

产品特点

1. 无血清、无蛋白、无动物源且化学成分明确;
2. 转染效率高, 适用于 HEK293 类细胞悬浮培养和转染;
3. 质控严格, 性能稳定;

使用说明

1. 使用建议:

- 1.1 常规换液或传代时, 从 4°C 冰箱取出的培养基可立刻使用, 无需预热至室温或 37°C;
- 1.2 此款培养基中含 2mM L-谷氨酰胺, 可根据使用场景适当补加。建议蛋白表达和病毒生产时可补加 L-谷氨酰胺使终浓度达到 4~6mM;
- 1.3 无需离心换液, 可直接将细胞悬液依照所需比例兑入培养液中;
- 1.4 建议传代后的细胞密度控制在 $5\sim 10\times 10^5$ 个/mL。

注意: 培养 HEK293 类细胞的建议, 可根据具体实际情况进行调整。

2. HEK293 悬浮细胞复苏及培养:

- 2.1 材料准备: HEK293 无血清培养基、15mL 无菌离心管、无菌移液管、无菌枪头、无菌摇瓶、L-谷氨酰胺等;
- 2.2 在超净台内取 8mL HEK293 无血清培养基加入 15mL 无菌离心管中备用;
- 2.3 从液氮罐中快速取出待复苏 HEK293 细胞, 放入 37°C 水浴锅中慢慢摇晃 2 分钟之内融化;
- 2.4 将冻存管表面酒精消毒后放入超净台, 用移液枪将细胞液转入之前备用的离心管中;
- 2.5 $150\times g$ 离心 5 分钟;
- 2.6 弃上清, 用手指轻弹离心管底使细胞分散, 加入 2mL 培养基后用移液枪轻轻吹打使细胞分散;
- 2.7 将细胞转移至已加入 18mL HEK293 无血清培养基的 125mL 摇瓶中, 可根据实际情况适当补加 L-谷氨酰胺;

2.8 将摇瓶置于二氧化碳培养箱中培养（37°C，5%二氧化碳浓度，摇床 120rpm 或根据实际情况调节）3~4 天，确定细胞密度和细胞活率。

注意：细胞活力在复苏 24 小时可能会有轻微降低，但应保持在 70%以上；复苏 4~7 天达到 90%以上。

3. HEK293 悬浮细胞传代：

3.1 材料准备：HEK293 无血清培养基、无菌离心管、无菌移液管、无菌枪头、无菌摇瓶、L-谷氨酰胺等；

3.2 传代前准备：

3.2.1 准备好将要使用的无菌摇瓶；

3.2.2 从培养箱中取出细胞，注意取出前拧紧瓶盖，用酒精棉球擦拭显微镜的台面，再在镜下观察细胞；

3.2.3 观察细胞是否被污染，正常的细胞培养基较为澄清，若观察到培养基颜色变黄且浑浊则表示细胞已被污染，应及时处理。其次是观察细胞的生长状态，生长状态良好的细胞悬液较为均一，无絮状或块状物体，否则细胞可能被污染；

3.2.4 计数，若细胞密度达到 $4\sim 6\times 10^6$ 个/mL 时，应进行传代处理。

3.3 细胞传代：

3.3.1 无需离心换液，可直接将细胞悬液依照所需比例兑入新鲜 HEK293 无血清培养基中；

3.3.2 依据具体应用场景可同时按比例加入适当量的 L-谷氨酰胺；

3.3.3 传代后的细胞密度应控制在 $5\sim 10\times 10^5$ 个/mL；

3.3.4 一般每周（7 天）需传代 2~3 次；

3.3.5 将摇瓶置于二氧化碳培养箱中培养（37°C，5%二氧化碳浓度，摇床 120rpm 或根据实际情况调节）。

4. HEK293 悬浮细胞冻存：

4.1 制备二甲基亚砜（DMSO）细胞冻存液，现用现配；

4.2 将细胞培养至对数生长期（密度约为 $4\sim 6\times 10^6$ 个/mL），计数并离心收集细胞；

4.3 用细胞冻存液将离心好的细胞以 10×10^6 个/mL 的密度重悬；

4.4 将适当量的细胞悬液分装到标记好名称和日期等信息的冻存管内，拧紧管盖；

4.5 将冻存管放置梯度降温盒中并置于 -80°C 冰箱中缓慢降温；

4.6 次日将冻存管转移至液氮内长期保存。此过程需尽可能快速完成（建议在 2 分钟内）。