EIV42026

ExCell Bio

OptiVitro® 293 无血清蛋白表达培养基 HE02 说明书

本品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗

货 号	HE000-N051
	HE000-N052
	HE000-N061
	HE000-N062
	HE000-N063



产品概述

OptiVitro® 293 无血清蛋白表达培养基 HE02 是专为蛋白表达设计的无血清、无蛋白、无动物源成分、化学成分明确的基础培养基，支持悬浮的 HEK 293 衍生细胞（293T、293F 等）快速扩增、高密度生长以及质粒转染，搭配 OptiVitro® 293 无血清补料培养基 HA02 可显著提高瞬时转染蛋白产量。

产品规格及储存、运输要求

产品名称	货号	规格	存储条件	运输条件	有效期
OptiVitro® 293 无血清蛋白表达培养基 HE02	HE000-N051	500 mL 液体	2-8°C 遮光	< 25°C 遮光	12 个月
	HE000-N052	1000 mL 液体			
OptiVitro® 293 无血清蛋白表达培养基 HE02（粉体）	HE000-N061	1 L 粉体	2-8°C 干燥、避光	< 10°C 避光	24 个月
	HE000-N062	10 L 粉体			
	HE000-N063	100 L 粉体			

产品注意事项

1. 产品存储过程中需要遮光，避免日光灯或其他灯光照射，在冰箱或仓库储存时建议使用有色包装袋。
2. 产品运输过程中需要遮光运输，避免日光或其他灯光照射对产品的外观产生影响导致外观变色。
3. 产品在使用过程中需要转运至洁净区内时，灭菌方式只能采用消毒剂擦拭灭菌，不能使用紫外灭菌。

【注意】：在经过带有紫外的传递窗时，需要主动关闭传递窗内的紫外灯。

操作方法

OptiVitro® 293 无血清蛋白表达培养基 HE02 粉体配制方法

1. 以配制 1 L 液体培养基为例，取洁净的配制容器，加入最终配制体积 80%的注射用水或细胞培养级用水；
2. 称量干粉培养基 21.94 g，缓慢加入水中，搅拌 30–40 min；
3. 缓慢加入 5 mol/L NaOH 溶液约 4.5–5.0 mL，调节 pH 至 8.5-8.8 后，搅拌 10 min；
4. 加入碳酸氢钠 2.2 g，搅拌 10 min；
5. 缓慢加入 6 mol/L HCl 溶液，约 3.5-4.0 mL，调节 pH 至 7.0-7.2 后，搅拌 10 min；
6. 加入注射用水或细胞培养级用水并定容至 1 L，继续搅拌 5 min；
7. 测量 pH 和渗透压，pH 应为 6.9-7.5，渗透压应为 280-320 mOsmol/kg；
8. 0.22 μm 滤膜除菌过滤后，2–8 °C 遮光保存。

细胞培养

1. 建议恒温恒湿摇床培养，条件设置 37 °C，5%CO_2，摇床转速为 90-120 rpm。根据细胞生长情况，每 2-3 天传代一次，活细胞密度达到 4.0-6.0×10^6 cells/mL 时即可进行传代，传代密度建议为 0.6-1.0×10^6 cells/mL。传代培养无需额外添加谷氨酰胺。
2. 若 293 细胞原来使用的培养基为其他品牌，可直接或逐步转入本培养基进行传代培养，传代 3 次（9-10 天）后细胞可适应本培养基，细胞扩增速度及细胞活率达到稳定状态，可进行后续实验。
3. 若 293 细胞是用其他品牌培养基培养后冻存的，推荐用细胞冻存前使用的培养基来复苏细胞，传一代后换成本培养基，再传代 3 次，细胞扩增速度及细胞活率达到稳定状态，可进行后续实验。使用本培养基产品培养后冻存的细胞，则可以使用本培养基产品复苏培养。

转染方法建议

以下介绍 293 无血清蛋白表达培养基 HE02 和 293 无血清补料培养基 HA02，搭配转染试剂 2G 的使用方法。

转染前细胞准备

1. 细胞复苏后，稳定传代 3 次后用于转染实验，保证细胞活率大于 90%。
2. 为确保转染当天活细胞密度达到 6×10^6–8×10^6 cells/mL，可使用新鲜 OptiVitro® 293 无血清蛋白表达培养基 HE02 调整细胞密度。可根据实验安排，在转染前任意一天进行密度调整，不同时间点的接种建议如下：

转染前时间	细胞接种密度（$\times10^6$）	转染当天目标密度
D-1	~3.5	6×10^6–8×10^6 cells/mL
D-2	~1.8	
D-3	~0.8	

转染（以 20 mL / 125 mL 摇瓶体系为例）

1. 转染当天，用新鲜的 OptiVitro® 293 无血清蛋白表达培养基 HE02 稀释细胞至 18 mL，使活细胞总数为 1.0×10^8 cells（对应转染密度 5.0×10^6 cells/mL）；
2. 制备复合物：本方案中转染体系 20 mL，细胞转染密度：5×10^6 cells/mL，DNA 浓度：1.0 μg/mL，DNA : 转染试剂 = 1 : 3（w/v），具体操作：

   将 20 μg DNA，用 OptiVitro® 293 无血清蛋白表达培养基 HE02 稀释至 2 mL，混合均匀后，将 60 μL OptiVitro® 转染试剂 2G 加入该 2 mL 体系，混匀形成复合物，室温孵育 10 min 左右；
3. 将制备好的 2 mL 复合物逐滴加入细胞悬液中，边加边轻摇摇瓶，使复合物与细胞充分混匀，加完后体系共 20 mL；避免一次性快速加入造成局部浓度过高。
4. 置于摇床中培养，培养条件：温度：37 °C；转速：110-120 rpm（50 mm 振幅），CO_2：5-8%；
5. 转染后 16–24 小时，添加 9%的 OptiVitro® 293 无血清补料培养基 HA02，补加 300 g/L 葡萄糖溶液 0.2 mL（20 mL 体系）；
6. 第 3 天，补加 300 g/L 葡萄糖溶液 0.4 mL（20 mL 体系）；
7. 第 5 天培养结束，收集样品。若继续培养，需再次补充葡萄糖。

   若培养体系扩大，可按比例增加相应物质的添加量，不同规格条件的添加量可参考表 1。为了获得更优的蛋白表达收获量，建议搭配本公司的补料培养基及转染试剂使用，相关信息见表 2。

表 1 不同转染规格推荐添加量

细胞培养容器	125 mL	500 mL	1 L
转染体系（mL）	20	100	200
细胞数量（×10^6 cells）	100	500	1000
OptiVitro® 293 无血清蛋白表达培养基 HE02（mL）	18	90	180
HE02 稀释体积（mL）	2	10	20
DNA（μg）	20	100	200
转染试剂 2G (μL)	60	300	600
OptiVitro® 293 无血清补料培养基 HA02（mL）	1.8	9	18

表 2 相关产品货号

产品名称	货号	规格
OptiVitro® 293 无血清补料培养基 HA02	HA000-N011	100 mL 液体
	HA000-N012	1000 mL 液体
OptiVitro® 293 无血清补料培养基 HA02（粉体）	HA000-N021	1 L 粉体
	HA000-N022	10 L 粉体
OptiVitro®转染试剂 2G	RF040-0011	5 mL 液体
	RF040-0012	100 mL 液体
	RF040-0013	1000 mL 液体
OptiVitro® 葡萄糖溶液	M101381C	10 mL 液体
	M101382C	100 mL 液体

【注意】以上转染参数为推荐值。为获得 293 细胞最优转染条件，可对细胞密度、DNA 浓度、DNA 与转染试剂比例、补料时点及蛋白收获时间进行 DOE 设计；不同项目的补料或收获时间可能不同，可据此优化。

免责声明

1. 产品应按照说明书指导使用，实验者未按说明书操作，本公司不对由此导致的产品性能偏离承担责任。
2. 产品仅用于科学研究及商业化生产，不适用于临床诊断和治疗，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。