

MetaCell® HEK293-100

化学成分确定细胞培养基

产品简介

MetaCell® HEK293-100 是为高效瞬时转染HEK293细胞而设计的化学成分确定细胞培养基，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，推荐与MetaCell® 293 TransFeed High-Glucose 搭配使用，兼容各种商业化阳离子转染试剂。

MetaCell® 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® HEK293-100	干粉	P2000-X010	10L	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)
		P2000-X100	100L			
		P2000-X500	500L			

MetaCell® 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。

培养条件

培养基: MetaCell® HEK293-100

培养类型: 悬浮

细胞系: Expi293F™, FreeStyle™ 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 ₂ , 湿度≥80%, 确保适当的气体交换并尽量避光培养					

MetaCell® HEK293-100配液方法 (以1kg为例)

1. 在干净的容器中添加880-900g的超纯水或注射用水 (水温20-30°C)。
2. 称取23.280-23.374g培养基干粉缓慢倒入容器培养基每升标示量: 23.327g/L。
3. 添加碳酸氢钠2.096-2.104g至培养基溶液中, 搅拌至完全溶解 (碳酸氢钠每升标示量: 2.100g/L)。
4. 添加5mol/L氢氧化钠溶液或5mol/L盐酸溶液调节pH至所需范围内 (建议范围为: 6.95-7.05)。
5. 补水定容至溶液净重为998-1002g, 搅拌5-10分钟。如pH出现明显变化, 继续用5mol/L氢氧化钠溶液或5mol/L盐酸溶液调节pH至6.95-7.05范围内。
6. 使用0.22µm除菌级滤膜过滤除菌, 除菌后的溶液应在2-8°C下密闭避光保存, 并于12个月内使用完毕。

细胞复苏

1. 取39mL MetaCell® HEK293-100 于125mL摇瓶中，37 °C预热20-30分钟。
2. 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，冻存管里细胞冰块即将消失时取出（如使用干冰运输细胞，建议立即解冻细胞，或将冻存管放在液氮中储存72小时以上，使细胞适应直到解冻，避免短期、极端的温度变化，不要在-80°C储存细胞）。
3. 取9mL提前预热的MetaCell® HEK293-100添加入15mL离心管中，将复融后的细胞转移至其中轻轻震荡混匀，混匀后取样测定细胞的密度和活率。
4. 取适量细胞，1000rpm离心4分钟后，弃上清，使用已预热的MetaCell® HEK293-100 重悬离心后的细胞，推荐最终细胞接种密度为 $0.3-0.4 \times 10^6$ cells/mL，于125mL摇瓶中进行培养，此时最终培养体积为30mL。
5. 将细胞置于细胞培养摇床培养，建议摇床培养参数为37 °C，8% CO₂，95±5 rpm（振幅50mm）。
6. 培养3-4天后，进行传代操作，细胞密度应 $\geq 3.0 \times 10^6$ cells/mL，活率 $\geq 90\%$ 。

细胞传代

1. 将MetaCell® HEK293-100 放入37 °C条件下复温20-30分钟，或在室温条件下复温1小时后进行传代操作。
 2. 在摇瓶中添加适量预热的MetaCell® HEK293-100，将所需种子液转移至摇瓶中并轻轻摇晃均匀，参考培养条件设置摇床参数，建议每2-4天用新鲜培养基进行传代培养。
 3. 推荐的细胞接种密度： $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL。
 4. 最终细胞密度达到 $3.0-4.0 \times 10^6$ cells/mL（即早期对数生长期），细胞活率 $\geq 95\%$ 即可进行传代培养。传代密度超出早期对数生长期可能延长细胞倍增时间，且滴度随时间而下降。调整接种密度，使传代时的细胞密度达到 $3.0-4.0 \times 10^6$ cells/mL。
- ▲ 注意：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。
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 $\geq 95\%$ 的细胞作为冻存用细胞。
2. 提前配制冻存液（90% MetaCell® HEK293-100 + 10% DMSO），2-8 °C预冷30分钟备用。
3. 最终的细胞冻存密度控制在 $10.0-15.0 \times 10^6$ cells/mL。细胞计数后取适量细胞悬液，1000rpm离心4分钟，弃上清，用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。
4. 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）。
5. 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® 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法（间接驯化法）。

- ▲ 注意：用于驯化的HEK293细胞需要处于对数生长期的早期，且活率 $\geq 95\%$ 。

• **直接驯化法**

1. 对于可以直接驯化的细胞，以 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL 的接种密度将 HEK293 细胞接种至新鲜的 MetaCell® HEK293-100 中（参看细胞传代步骤）。
2. 培养 3-4 天后，检测细胞密度以及活率，此时细胞活率应 $\geq 95\%$ ，如果活率较低，则需要更换驯化的细胞或采用间接驯化法。
3. 继续传代 3-4 次，当细胞密度在接种的 3-4 天内达到 $3.0-4.0 \times 10^6$ cells/mL 且细胞活率 $\geq 95\%$ 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. 将原培养基与 MetaCell® HEK293-100 按体积比 75:25 混合，细胞接种密度为 $0.4-0.6 \times 10^6$ cells/mL。
2. 培养 3-4 天后，细胞密度达到 $3.0-4.0 \times 10^6$ cells/mL 传代，
 - (1) 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® HEK293-100 的比例为 50:50；
 - (2) 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® HEK293-100 以 75:25 比例混合。
3. 重复步骤 2 并逐渐增加 MetaCell® HEK293-100 所占的比例（推荐比例 50:50，25:75），直到使用 100% 的 MetaCell® HEK293-100 进行细胞培养。
4. 在 100% 的 MetaCell® 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，可认为驯化完成。
5. 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® HEK293-100，并且以常用的接种密度传代培养。

1. 于转染前 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。
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。
3. 具体转染操作请参考 MetaCell® HEK293 Transfectory 瞬时蛋白表达系统操作指南。

▲ 扫描右侧二维码，联系我们，获取如下帮助：

- MetaCell® HEK293 Transfectory 瞬时蛋白表达系统操作指南
- 技术支持服务
- 相关参考文献



-----最初编制日期：2023.05 -----最新修订日期：2025.06 -----

产品订购信息

产品	类别	形态	目录号	包装规格
MetaCell® HEK293-100	培养基	干粉	P2000-X010	10L
			P2000-X100	100L
			P2000-X500	500L
		液体	L2000-0500	500mL
			L2000-1000	1000mL
MetaCell® 293 TransFeed High-Glucose	补料	液体	L2009-0100	100mL
			L2009-1000	1000mL
MetaCell® PEI 40K	转染试剂	液体	L5001-0010	10mL
			L5001-0100	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