



293 KT01f-生长

293 细胞生长培养基

使用说明书

TS-ZB-S-003-C/01

目 录

一、 产品概述	1
二、 订购信息	1
三、 产品参数	1
四、 使用范围	1
五、 配制过程	2
六、 储存条件	2
七、 293 KT01f 培养基适应	2
八、 293 悬浮细胞冻存	4
九、 293 悬浮细胞复苏	4
十、 操作注意事项	5

一、产品概述

293 KT01f 是一款 293 细胞通用型无血清全悬浮培养基，广泛应用于 293 细胞培养及腺病毒表达。

二、订购信息

表 1 订购信息

产品名称	液体		固体	
	货号	规格	货号	规格
293 KT01f-生长	L11802f	500mL/1L	Y3041f	1L/5L/10L/50L/100L

三、产品参数

表 2 293 KT01f-生长培养基产品参数

理化特性	外观（固体）	均匀细致粉末
	外观（液体）	澄清浅红色液体
	pH	7.0-7.4
	渗透压	300-340mOsm/kg
	内毒素	<10EU/mL
细胞相关	适用细胞	293 细胞
	倍增时间	24h
保质期	保质期限（固体）	18 个月
	保质期限（液体）	12 个月

四、使用范围

仅用于科研及工业生产，不能用于人体。

五、配制过程

293 KT01f-生长培养基含有一个组分：

表 3 293 KT01f-生长配方量

组分	配方量
293 KT01f-生长	28.54g/L

293 KT01f-生长 配制说明：

- 5.1. 确定配制总体积，选择合适容器进行配制，容器体积大于总体积；
- 5.2. 按照配方量在容器中加入培养基粉末，再加入约配制总体积 80% 的超纯水或注射用水，建议机械搅拌至少 90min 至粉末全部溶解；
- 5.3. 充分溶解后测定培养基 pH，若测定值在正常范围内则无需调整，若测定值超出正常范围，则用 1M 的 HCL 或 5M 的 NaOH 调节至正常范围 7.0-7.4；
- 5.4. 使用注射用水或超纯水定容至目标体积；
- 5.5. 无菌过滤。

六、储存条件

2-8℃低温避光保存。

七、293 KT01f 培养基适应

- 7.1. 直接适应：最初培养阶段，细胞按初始密度 0.7×10^6 cells/mL 接种，直接将培养基更换为 293 KT01f 进行培养。待细胞培养 2-3 代，且生长稳定后进行后续实验。293 细胞稳定生长时，按 0.7×10^6 cells/mL 密度接种，培养 72h 后，细胞密度 $\geq 4 \times 10^6$ cells/mL，细胞活率 $\geq 95\%$ 。
- 7.2. 间接适应：保持初始接种密度为 0.7×10^6 cells/mL。细胞培养过程中逐步减少原培养基直至完全在 293 KT01f 中培养。原培养基与 293 KT01f 比例推荐为

(75:25、50:50、25:75、10:90、最终为 100% 293 KT01f)，每个阶段至少适应 3 代，细胞生长稳定后进行实验。293 细胞稳定生长时，按 $0.5-1 \times 10^6$ cells/mL 密度接种，培养 72h 后，细胞密度 $\geq 4 \times 10^6$ cells/mL，细胞活率 $\geq 95\%$ 。

7.3. 注意事项：

7.3.1. 根据细胞具体情况选择培养基直接适应或者间接适应。

7.3.2. 细胞驯化初期，若出现细胞生长密度较低、细胞结团等不稳定状态，根据当天细胞密度选择传代方式（稀释传代、离心传代）。

7.3.3. 稀释传代：根据细胞密度计算传代时所需细胞悬液，去除多余细胞悬液并补加新鲜培养基。

7.3.4. 离心传代：根据细胞密度计算传代时所需细胞悬液，800rpm (114g) 离心 5min，去除上清，用新鲜培养基重悬细胞。

7.3.5. 活细胞处理方式：收到活细胞悬液后，可转移至摇瓶（建议 125mL 摇瓶培养 30mL 细胞或 250mL 摇瓶培养 50mL 细胞）后计数，若细胞密度 $\leq 1.5 \times 10^6$ cells/mL，则无需处理，48h 后按 $0.5-1 \times 10^6$ cells/mL 密度接种，培养 72h，若 1-2 代间细胞生长密度 $\geq 4 \times 10^6$ cells/mL，细胞活率 $\geq 95\%$ ，即视为恢复正常；若细胞密度 $> 1.5 \times 10^6$ cells/mL，则按 $0.5-1 \times 10^6$ cells/mL 密度接种，培养 72h，若 1-2 代间细胞生长密度 $\geq 4 \times 10^6$ cells/mL，细胞活率 $\geq 95\%$ ，即视为恢复正常；若收到活细胞悬液后不能立即进行传代处理，可转移至摇瓶中，24h 后计数并按照上述方式进行处理。

7.4. 细胞正常状态传代：

表 4 细胞正常传代生长数据

细胞名称	培养基	接种密度 (cells/mL)	第 3 天细胞密度 ^[1] (cells/mL)	细胞活率 (%)	平均倍增时间(h)
293-L3	293 KT01f	0.7×10^6	$\geq 4 \times 10^6$	≥ 95	28

注释：[1] 不同计数方式可能存在差异（建议使用：Countstar 自动细胞计数仪，货号：IC1000，品牌：上海睿珏生物科技有限公司）。

八、293 悬浮细胞冻存

- 8.1. 待细胞恢复至正常状态后，扩大细胞培养体积准备冻存建库。尽量多建细胞库，保证备份充足（冻存管建议品牌：Corning，货号：430488）。
- 8.2. 选择处于对数生长期、活率>90%细胞进行冻存，冻存细胞密度： $10\text{--}15 \times 10^6$ cells/mL，推荐 15×10^6 cells/mL。
- 8.3. 准备冻存盒：向程序降温盒注入适量异丙醇，置于 4℃ 冰箱预冷。
- 8.4 **含血清细胞冻存液配制**：冻存液 = 80% 293 KT01f + 10% FBS（建议使用进口胎牛血清）+ 10% DMSO，冻存液配好后置于 4℃ 冰箱预冷。（冻存液配制时，先加培养基再加血清或 DMSO，防止 DMSO 浓度过高导致血清有效成分变性。）
无血清细胞冻存液配制：冻存液 = 92.5% 293 KT01f + 7.5% DMSO，冻存液配好后置于 4℃ 冰箱预冷。
- 8.5. 取细胞悬液，800rpm（114g）离心 5min，弃去上清，用适量细胞冻存液重悬细胞，调整细胞密度至目标值。
- 8.6. 快速分装细胞液至冻存管中。
- 8.7. 将冻存管放入程序降温盒中，放于-80℃ 冰箱，24h 后转至液氮罐中储存。一段时间后复苏检测。

九、293 悬浮细胞复苏

- 9.1. 预热培养基：取 20mL 对应培养基置于摇瓶中，放入 37℃ 二氧化碳培养箱中预热 30min 以上（平衡培养基 pH 值），保证预热充分。
- 9.2. 将冻存管从液氮罐或-80℃ 冰箱中取出，迅速转移至 37℃ 水浴中，快速摇晃，直至完全融化。
- 9.3. 取预热好的培养基 5mL 于无菌离心管中，并将解冻后的细胞悬液移入此离心管中。800rpm（114g）离心 5min（除去冻存液中 DMSO）。
- 9.4. 离心后去除上清，用 15mL 预热好的培养基（保证较高细胞复苏密度）重悬

细胞，移回相应摇瓶，放于培养箱中悬浮培养。

十、操作注意事项

10.1 293 培养基从 4℃ 冰箱取出必须恢复到室温后使用。

10.2 摇瓶取出进行转染或计数等操作后，应尽快放回摇床，切勿长时间室温放置。



浙江壹生科生物技术有限公司

地址：浙江省诸暨市陶朱街道聚力路 16 号 1 号厂房

电话：0575-80709355

