



StarFect 293 Transient Transfection Medium

StarFect 293 瞬转培养基

版本号: V221201

货号: C104
保存: 4°C
运输: 低温运输

货号	规格
C104-1L	1 L

【产品概述】

StarFect 293 瞬转培养基是一款针对人类胚胎肾细胞 293 (HEK293) 和其衍生细胞系瞬时表达所研发的无血清、无动物成分培养基。适用于 HEK293 系列细胞的悬浮培养以及瞬时化学转染。该培养基可以实现细胞快速增殖及高密度培养, 并可直接在培养体系中进行化学转染及蛋白表达, 全程无需换液, 便于使用。此培养基配方中不含次黄嘌呤及胸苷。

【产品组分】

组分名称	C104-1L
StarFect 293 Transient Transfection Medium	1 L

成分: 4mM L-谷氨酰胺, 6.0 g/l 葡萄糖, 1.9 g/l 碳酸氢钠。

【保存条件】

4°C避光保存, 保质期12个月, 勿冰冻。

【培养条件】

适用细胞系: HEK293、HEK293T、HEK293F、HEK293FT。

培养类型: 悬浮

培养容器: 摇瓶/TPP/反应器

温度范围: 37°C ± 0.5

培养箱气体要求: 5% CO₂的加湿培养

培养箱转速要求: φ26 mm, 125 rpm

注意: 确保适当的气体交换和最小化的曝光培养。

【注意事项】

- StarFect 293 瞬转培养基的使用需要无菌。
- 含L-谷氨酰胺, 开瓶即用。
- 不推荐使用抗生素。
- 开封后未用完的培养基应进行分装, 使用封口膜封口, 在2-8°C避光干燥保存。

【使用方法】

1. 细胞驯化: 少数HEK293细胞因长期适应原培养条件, 需要经过一个简单的顺序驯化过程来适应。从原培养体系向StarFect 293 瞬转培养基驯化之前, 务必确保细胞处于对数生长期且活率>90%。

A. 直接接种: 将悬浮培养细胞转移到StarFect 293 瞬转培养基中, 如下:

- 1,000 rpm离心细胞悬浮液3-5 min。吸出并丢弃上清液;
- 以 5×10^5 cells/ml的活细胞密度将细胞沉淀重悬于预热的StarFect 293 瞬转培养基中并转移至合适的培养容器;
- 放回摇床并监测细胞生长。

注意: 如果使用直接接种方法观察到细胞生长或转染效率不理想, 则使用顺序驯化方法。

B. 顺序驯化: 按照以下程序进行细胞悬浮培养的步骤:

- 使用 5×10^5 cells/ml的接种密度;
- 逐步调整StarFect 293 瞬转培养基与原始培养基的细胞培养比例 (25: 75, 50: 50, 75: 25, 90: 10, 然后



是100% StarFect 293 瞬转培养基)。每个步骤视情况可多次传代；

在100% StarFect 293 瞬转培养基中几次传代后，活细胞密度应超过 2×10^6 cells/ml，倍增时间约24-30h，培养4-6天内存活率 $\geq 85\%$ 。至此，细胞即已适应StarFect 293 瞬转培养基。请按以下步骤冻存细胞备用。

2. 冷冻保存：准备好所需数量的细胞，在活率 $>90\%$ 的对数生长中期阶段进行冻存。

- a) 以92% StarFect 293 瞬转培养基与8% DMSO的混合液作为冷冻保存培养基，并储存于 2°C 至 8°C 直至使用；
- b) 确定活细胞密度，并计算出冷冻保存培养基所需的体积，使最终冻存密度为 $1-3 \times 10^7$ cells/ml；
- c) 通过1000 rpm离心3-5 min收获细胞，将细胞沉淀悬浮在预定体积的 2°C 至 8°C 的冷冻保存培养基中；
- d) 根据规格（即2 ml冷冻管可放置1-1.5 ml细胞液）立即将细胞悬浮液的分装到冻存管中；
- e) 按照标准程序（每分钟降低 1°C ），在自动或手动控制速率冷冻设备中实现冷冻保存。将冷冻细胞转移到液氮中，存储在 -200°C 至 -125°C 。

注意：在液氮中储存24 h后取出一只检查冷冻保存细胞的活率及其它指标。请参阅“细胞复苏”。

3. 细胞复苏：

- a) 在 37°C 水中快速解冻（ <2 min）冻存管中的细胞液；
- b) 将细胞液转移至15 ml离心管中，加入10 ml预热的StarFect 293 瞬转培养基，1000 rpm离心3 min，丢弃上清液，使用5 ml StarFect 293 瞬转培养基重悬，计数；
- c) 将冷冻管的全部细胞液转移到装有15 ml预热的完全StarFect 293 瞬转培养基的125 ml摇瓶中，稀释至所需细胞密度；
- d) 在含有 $5\% \text{CO}_2$ ， 37°C ，加湿的培养箱或摇床进行培养。（培养时拧松瓶盖（或使用通气盖）以进行气体交换）；
- e) 细胞复苏后培养2-3天处于对数生长中期时传代。在进行其它实验之前，复苏的细胞至少应进行三次传代。

4. 细胞增殖：

- a) 使用自动细胞计数仪或其它计数仪器进行细胞计数，根据需要的接种密度或者按比例接种传代；
- b) 种子瓶接种密度为 5×10^5 cells/ml；
- c) 继续置于 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 的培养摇床中培养，通常2-3天后可进行下一次传代。

5. 转染前细胞准备：

- a) 按上述步骤，使用StarFect 293 瞬转培养基复苏及增殖细胞，至细胞密度为 $1-2 \times 10^6$ cells/ml。
- b) 计数，用StarFect 293 瞬转培养基将细胞稀释至 1×10^6 cells/ml，得细胞悬液备用。
- c) 按以下比例准备试剂，每100 ml细胞悬液中应加入：

转染混合液		6 ml
A组分	PBS	3 ml
	DNA	100 μg
B组分	PBS	3 ml
	PEI	400 μg

- d) 向两份3 ml的磷酸盐缓冲液（PBS, pH 7.4）中分别加入待转染DNA 100 μg （总量）和PEI转染试剂400 μg （总量），充分混匀，静置5 min，即为A、B组分；
 - e) 将A、B组分混合，充分混匀，静置10 min，即为转染混合液；
 - f) 将转染混合液6 ml逐滴全部加入到100 ml细胞悬液中，边加入边摇匀。
6. 蛋白表达及收获：请参阅“培养条件”及“细胞增殖”步骤，将转染后的细胞继续培养5-7天（延长培养时间需考虑补料策略）。收集上清，检测及纯化表达产物。



【常见问题】

可能出现的问题	原因	解决方法
细胞复苏后活率低	储存不当	重新建库并保存在液氮中 以 1×10^7 细胞密度冻存细胞
	细胞建库质量不佳	使用92% StarFect 293 瞬转培养基+8%DMSO冻存细胞 使用传代次数较低的细胞进行建库
细胞生长缓慢	培养基转换	使用StarFect 293 瞬转培养基驯化传代二至三代
	摇床设定	在37°C, CO ₂ 含量为5%的条件下培养
	摇瓶选择	使用总容量为培养基体积2.5倍的摇瓶
	细胞过老	使用传代次数不超过30代的细胞避免细胞状态发生变化
转染效率/蛋白收率低	细胞结团	使用StarFect 293 驯化传代细胞, 注意传代前细胞密度不要超过 2×10^6
	细胞传代次数过高	使用传代次数不超过30代的细胞
	培养基中加入抗生素	请勿在培养基中加入抗生素
	转染试剂储存不当	请将转染试剂储存在4°C, 不要冷冻
	混匀不当	轻柔搅拌均匀, 请勿震荡
	质粒回收质量不高	请注意回收质粒的质量, 尽量采用低内毒素的质粒
	DNA未除菌	使用除菌后的DNA
	DNA回收溶液	使用超纯水溶解回收DNA
外源基因的毒性	考虑外源基因表达蛋白的细胞毒性	
太早或太晚收获蛋白	过早或过晚收获蛋白都会造成收率偏低	

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。