

Harvest™ 293F 表达系统 (Plus)

产品描述

Harvest™ 293F 表达系统 (Plus) 可实现 HEK293 细胞株及其他 293 细胞的高效率瞬时转染和蛋白表达。

- 超 1000+项目性能验证。
- 广泛用于各种用途的 HEK293 高密度悬浮培养及高效率瞬时转染，支持蛋白高效表达 (可>1000mg/L)。
- 细胞性能测试中表现出优异的一致性 (批次内 & 批次间 RSD<5%)
- 易于放大培养规模，在孔板、试管、摇瓶、Wave 和大型生物反应器中具有一致的性能

产品信息

Harvest™ 293F 表达系统 (Plus) (货号: AC601500)

组分	规格	货号
293F Hi-exp 培养基	1000ml	AC601501
293F Hi-exp 补料	100ml	AC601502
CarpTrans 转染试剂(GMP 级)	5*1ml	AC501301

应用范围

Harvest™ 293F 表达系统 (Plus) 既适用于科研应用，也适用于基于细胞培养的大规模生物药生产，但不可直接用于人体或作为药物使用。

运输与保存

保存	运输	有效期
2-8℃，避光	冰袋	12 个月

使用方法

1. 推荐细胞培养条件

温度 36-38℃，湿度 80%，5-8%CO₂

摇床设置：转速 115-125rpm (振幅 50mm)

2. 细胞复苏

- 在 37℃ 水浴中快速 (< 2min) 融化冷冻的细胞；
- 将冷冻管中的细胞液全部转移到含有 30ml 预温过的 293F Hi-exp 培养基的 125ml 摇瓶中；
- 放入 37℃，5-8% CO₂，转速 115-135rpm (振幅 50mm)，湿度 80%的摇床中培养。

3. 细胞传代

- 将 293F Hi-exp 培养基放入 37℃ 条件下预热 20-30min。
- 取细胞密度 3 × 10⁶ - 4 × 10⁶cells/ml、活率 95%、处于对数生长期中期的细胞进行传代；

【注意：不同类型的 HEK293 细胞可能具有不同的对数生长期范围。】

- 接种密度推荐：0.3 × 10⁶ - 0.6 × 10⁶cells/ml。
- 无菌转移所需量的种子液至合适体积的摇瓶中，并添加所需体积的已预热的 293F Hi-exp 培养基。
- 将摇瓶放入温度 37℃，湿度 80%，转速 110-150rpm (振幅 50mm)，5%-8%CO₂的细胞培养摇床中进行培养。

【每 2-3 天用新鲜的培养基按上述步骤进行传代培养。】

4. 细胞驯化

4.1 直接接种法

对于可以直接驯化的细胞，可以从无血清培养基中直接接种到 293F Hi-exp 培养基中，接种密度参考传代步骤。

继续传代细胞，直到细胞稳定生长。

传代几代之后，细胞密度在接种的 3-4 天内达到 3 × 10⁶cells/ml、细胞活性 90%。此时，可以认为细胞已被驯化成功。

4.2 梯度驯化法

如果直接驯化效果不佳，请尝试按照以下梯度驯化表格进行操作。

选择低代次的细胞，并确保细胞处于对数期。

使用原始培养基培养细胞，并继续使用原始培养基传代 2-3 代，以实现稳定的细胞生长。

在完全使用 293F Hi-exp 培养基接种 3-4 天之后，VCD 应该稳定达到 3 × 10⁶cells/ml，细胞活性 90%。此时，细胞已经驯化到 293F Hi-exp 培养基中。

293F Hi-exp 培养基：原始培养基 (%)	接种细胞密度 (x10 ⁶ cells/ml)	细胞生长评估	进行下一步前的验收标准
0:100	as usual	VCD & Viability	VCD 3 × 10 ⁶ /ml, Viability 95% over 2 passages
30:70	0.6	VCD & Viability	VCD 2 × 10 ⁶ /ml, Viability 90% over 2 passages
70:30	0.5	VCD & Viability	VCD 2 × 10 ⁶ /ml, Viability 90% over 2 passages
100:0	0.4	VCD & Viability	VCD 3 × 10 ⁶ /ml, Viability 90% over 2 passages

5. 转染和瞬时表达

5.1 转染细胞制备

接种细胞并培养至适当密度，转染密度建议在 $1.5 - 3.0 \times 10^6$ cells/ml。转染细胞活率建议 95%。

5.2 制备转染复合物

质粒稀释液制备：将适量质粒加入 293F Hi-exp 培养基中，轻轻混匀，质粒稀释液体积建议为总体积的 2.5% - 5%。

Carp Trans 转染试剂稀释液制备：将适量转染试剂加入 293F Hi-exp 培养基中，轻轻混匀，转染试剂稀释液的体积建议为总体积的 2.5% - 5%。

质粒 - 转染试剂复合物制备：将转染试剂稀释液加入质粒稀释液中，轻轻混匀后在室温下孵育 10 - 15 min，充分反应形成质粒 - 转染试剂的复合物。

【对于 293 悬浮细胞，每 mL 待转染细胞体系推荐可转染质粒总数量为 1.0 μ g，常用核酸(μ g)-转染试剂(μ l)比例为 (1:3-1:4)，基础数据可参考本产品说明书附表。】

5.3 转染细胞

将孵育好的质粒 - 转染试剂复合物缓慢加入培养好的待转染细胞中，边加边轻轻摇动摇瓶。

置于推荐培养环境下继续培养。

温度 36 - 38 °C，湿度 80%，5 - 8% CO₂

摇床设置：转速 115 - 125 rpm（振幅 50 mm）

附表：Expi293 悬浮细胞推荐转染体积

培养瓶尺寸	推荐待转细胞体积 ml	建议接种密度 cells/ml	质粒推荐用量 ^[1] μ g	转染试剂推荐用量 ^[2] μ l	蛋白推荐收样时间 ^[3] Day
96孔深孔板	0.8	2.5×10^6	0.8	3.2	5-7
24孔深孔板	2.5	3×10^6	2.5	10	5-7
Mini生物反应器	15	3×10^6	15	60	5-7
SF125	25	3×10^6	25	100	5-7
SF250	50	3×10^6	50	200	5-7
SF1000	200	3×10^6	200	800	5-7
SF2000	400	3×10^6	400	1600	5-7
SF3000	800	3×10^6	800	3200	5-7

5.4 推荐的培养基补料添加方案

293F Hi-exp 补料，作为一款高性能补料，不含任何动物来源的成分，含有植物来源水解物。与 293F Hi-exp 培养基在瞬时转染 HEK293 细胞过程中联用，可实现更高水平的蛋白瞬转表达量。

- 转染 16 - 22 小时后，向摇瓶中添加 5% (v/v) 293F Hi-exp 补料，在添加过程中轻轻晃动摇瓶。将摇瓶放回 37 °C 培养箱继续培养。
- 在瞬时表达过程（一般转染后的 2 - 7 天）中，维持葡萄糖浓度在 4g/L 以上。当细胞活率低于 60% 时收获细胞。

补料	补料添加方案
293F Hi-exp 补料	16 - 22h post-transfection add 5% 293F Hi-exp 补料

5.5 推荐的细胞收获时间

当细胞活率低于 60% 时收获细胞。不同转染体系的蛋白收样时间有所差异，建议在首次实验时进行最优用量探索。对于 Expi293 细胞，推荐收样时间在 5 - 7 天。

注意事项

- 为保障转染效率，请使用高纯度、无内毒素的质粒。
- 待转染细胞的状态会对转染效率产生极大影响，建议使用新鲜传代并生长到对数期、无菌、无支原体污染的细胞。
- 为了保护您的安全与健康，实验中请全程穿戴好实验服和一次性手套，并注意通风橱操作。

Note :

[1] 质粒用量：需根据待转染细胞体积确定，建议在首次实验时进行最优用量探索。对于 Expi293 细胞，推荐每 ml 培养体积转染 1 μ g 左右质粒。

[2] 转染试剂用量：需根据实际转染质粒的量和细胞密度来优化，推荐每 μ g 质粒使用 3 - 4 μ l 转染试剂，建议在首次实验时进行比例优化。

[3] 转染效果观测时间：不同转染体系的蛋白收样时间有所差异，一般转染后 24 - 72h 内可检测到转染效率逐渐提高。

