

Uni293 表达培养基是一种非动物源性、化学成分明确的无蛋白培养基，适合于不同亚型 293 细胞 (expi293 , 293T 和 293F 细胞等) 的高密度悬浮培养，可实现重组蛋白和抗体的高水平表达。培养基为即用型完全培养基，无需补充添加剂。

GT61110 1	Gactoo 盖图 Uni293 细胞通用无血清培养基	1L
GT61110 2	Gactoo 盖图 Uni293 细胞瞬转试剂盒 K02	1L

Uni293 表达培养基的特点：

- 即用型完全培养基规格，含 Gln 补充剂
- 适合于不同亚型 293 细胞 (expi293 , 293T 和 293F 细胞等) 的高密度悬浮培养，
- 非动物源性、无蛋白且化学成分明确的配方
- 在转瓶和生物反应器中具有可扩展性

即用型完全培养基

Uni293 表达培养基为即用型产品。不需要添加血清、谷氨酰胺或表面活性剂。

Uni293 表达培养基含有 Gln，使用易于使用的规格能够尽可能减少毒性氨积聚，并可提高细胞活力和生长率。

能够支持 293-F 细胞的悬浮生长和转染

非动物源性、无蛋白且化学成分明确的配方

Uni293 表达培养基为非动物源性、无蛋白且化学成分明确的配方，可更轻松地纯化您的目标蛋白。Gactoo™ 盖图 化学成分确定的培养基不含蛋白质、水解物或组成未知的组分。

在转瓶和生物反应器中具有可扩展性

可在转瓶或生物反应器中扩大使用 Uni293 表达培养基的蛋白生产的规模。应为每个系统优化适当的旋转器或叶轮转速和接种密度。根据叶轮设计和转速，可能需要在 Uni293 表达培养基中补充额外的 F-68，以避免培养中的剪应力。

产品运输及存储

运输：常温或冷链运输；

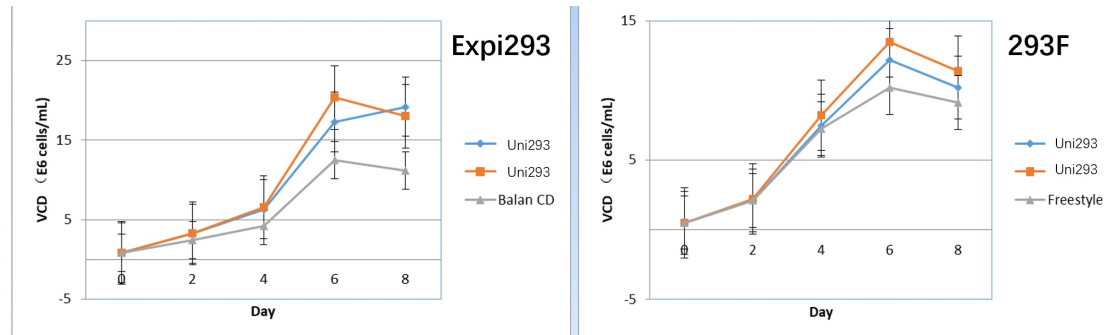
存储：2~8°C，干燥、避光保存；

有效期：基础培养基干粉：2 年；

基础培养基液体：1 年；

补料培养基干粉：2 年；

补料培养基液体：1 年（开封后建议在 3 个月内使用完）。



Uni293 培养基不同 293 细胞系生长曲线明显高于进口培养基

Gactoo 盖图 Uni293 细胞瞬转试剂盒 K02 说明书

Gactoo 盖图 Uni293 细胞瞬转表达基础培养基 (Basal Medium) 与补料培养基 (Feed Medium) 是完全化学成分限定 (Chemically Defined)，均不含血清、水解物及任何动物来源的成分，适合于不同亚型 293 细胞 (expi293 和 293T 细胞等) 高密度悬浮培养，可实现重组蛋白和抗体的高水平表达：培养 7 天表达量在 500mg/L 左右，部分可达 2g/L 以上。

一、产品描述

该套装一套为 1 L 表达体系，适用于 HEK293F、Expi293F、293T 细胞；

本产品具有高转染效率，高表达量等优势，适用于多种 293 细胞，使用方便。

套装货号	GT611102 Uni293 细胞瞬转试剂盒 K02 (由以下试剂组成)			
名称	描述	货号	体积	保存环境
Uni293 培养基	基础培养基	GT611101	1000 mL/瓶, 1 瓶	2~8°C
293Feed	补料培养基	GT293F.01	100 mL/瓶, 1 瓶	2~8°C
293PEI	转染试剂	GT293P.1	5 mL/支, 1 支	2~8°C

二、瞬转推荐工艺指南

▶ 细胞扩培或适应性传代

- 1、将基础培养基放入 36.5~37.0°C条件下预热 20 min；
- 2、检测活细胞密度，按接种密度为 $\sim 0.4 \times 10^6$ cells/mL的最终传代体积，计算所需种子液量；
- 3、无菌转移所需量的种子液，添加至含所需体积的已预热的基础培养基的摇瓶中；
- 4、将摇瓶放入温度 $\sim 37.0^\circ\text{C}$ ，120 rpm（振幅 50 mm）（摇瓶底面积增大，需减小摇床转速），5%~8% CO₂的细胞培养摇床中进行培养；
- 5、每 3 天用新鲜的培养基按上述步骤进行传代培养；
- 6、若细胞从其他培养基转移至该培养基中，细胞倍增时间与原培养基一致，方可进入下一步骤。

► 细胞转染

转染前一天准备 (Day-1):

将细胞密度调整至 $\sim 2 \times 10^6$ cells/mL（此步可以提高工艺稳定性和表达量），转染当天细胞密度可达到 4 E6 左右。

细胞转染 (Day0): 以 20mL 转染体系为例

- 1、取细胞培养液并检测细胞密度，当细胞密度超过 4.5×10^6 cells/mL 时，用新鲜培养基将细胞稀释至 4×10^6 cells/mL（采用离心换液方式最佳，可提高 50%的表达量）；
- 2、将 30 ug 质粒（即终总用量为 1.5 ug/mL）用 10%的 Trans CD05 培养基（培养体积的 10%）稀释，然后加入 104uL 293PEI（即终用量为 5.2 uL/mL，PEI: DNA=3.5），吹打混合均匀，然后静置 5~20min；
- 3、缓慢滴加上述混合物，边滴加边混合，使混合物能均匀扩展；

表 2 质粒推荐用量

单质粒	双质粒	其他情况
总量 1.5ug/mL	轻链 0.8 ug/mL; 重链 0.7 ug/mL;	轻链合起来是 0.8 ug/mL; 重链合起来是 0.7 ug/mL;

- 4、将转染结束的摇瓶放置于 37.0°C, 120 rpm (50 mm 振幅) (若 25mm 振幅可提高至 130rpm), $\sim 5\%$ CO₂的细胞培养摇床中进行培养；

推荐工艺: 最简化

Day 1 (培养 24h 左右): 根据转染细胞体积，补加 8 %的 293Feed，不降温。Day5-7 之间收获 (根据实际需求选择 Day5-7 中任何一天，培养时间越长表达量越高)；

三、细胞冻存指南

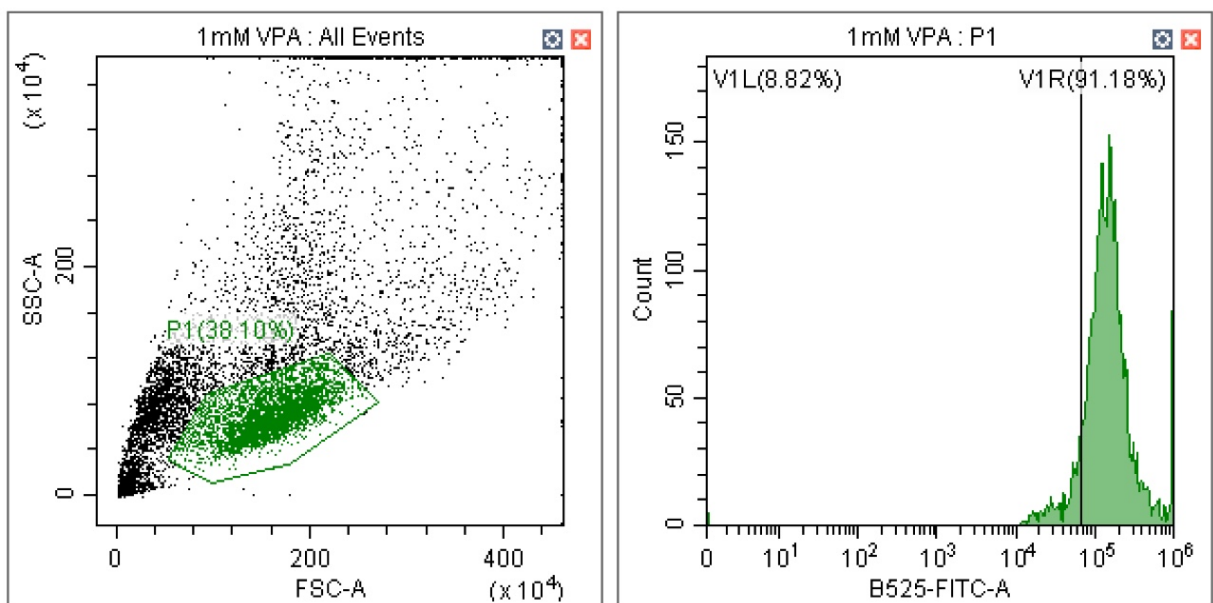
- 1、准备处于对数生长期的细胞，且细胞活率在 95%以上；
- 2、检测活细胞密度，计算所需的冻存培养基体积，计算最终细胞密度 $1\sim 1.5\times 10^7$ cells/mL；
- 3、准备好所需的冻存培养基：90%基础培养基+10% DMSO，2~8°C冷藏保存；
- 4、设置离心力 $200\times g$ ，离心 5 min，用冻存培养基重新悬浮细胞至冻存体积；
- 5、将悬浮细胞等分保存至适宜规格的细胞冻存管中；
- 6、将细胞冻存管置于程序降温盒中，按照降温标准进行降温；
- 7、将细胞转移到液氮罐中保存。

四、细胞复苏指南

- 1、提前打开水浴锅，并设置温度至 $36.5^{\circ}\text{C}\sim 37.0^{\circ}\text{C}$ ；
- 2、将细胞从液氮罐中移出后，快速在水浴锅中融化冷冻的细胞 (<3 min)；
- 3、将冷冻管中的细胞液全部转移到 125 mL 含有 30 mL 预温过的基础培养基的摇瓶中；
- 4、置于 $36.5\sim 37.0^{\circ}\text{C}$ ，5~8% CO_2 ，转速 120 rpm (轨道振幅 50 mm) 的摇床中培养；
- 5、细胞至少传代 2 次，待细胞完全复苏且活率在 90%以上，可按计划进行后续操作。

五、案例分享

案例 1：48h 瞬转效率超过 90%



案例 2：培养 7 天表达量超过 2g/L

新旧293瞬转试剂盒表达量对比					
序号	细胞株	工艺	D3 Titer (mg/L)	D5 Titer (mg/L)	D7 Titer (mg/L)
K01	HEK293F	仅Day1单次补料	331	761	921
K02		仅Day1单次补料	474	1024	1189
K02		Day1和Day4都补料	468	1006	1431
K02		瞬转前离心+仅Day1单次补料	732	1328	1498
K02		瞬转前离心+Day1和Day4都补料	697	1392	2014

六、特别说明

- 1、基础培养基使用前超过生产日期 6 个月，需补加 2~4mM Gln；
- 2、293PEI 保存在 2-8 °C；
- 3、耗材推荐参数

耗材	培养体积 (mL)	50mm 振幅摇床转速 (rpm)	25mm 振幅摇床转速 (rpm)
125 摇瓶	20~30	120	130
250 摇瓶	35~50	120	130
500 摇瓶	80~100	120	130
1L 摇瓶	150~250	120	130
5L 摇瓶	1000~1500	90	120