

货号	名称	规格	应用
SP03001-0500	DMEM/HIGH GLUCOSE	500 mL	细胞培养

DMEM/HIGH GLUCOSE

产品说明书

产品规格：500 mL

产品货号：SP03001-0500

1. 产品描述：

Dulbecco的改良Eagle培养基—DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) 是一种广泛使用的基础培养基，适用于多种哺乳动物细胞培养，包括原代成纤维细胞，神经元，神经胶质细胞，HUVEC和平滑肌细胞，以及HeLa, 293, Cos-7和PC-12等细胞系。DMEM是在MEM培养基的基础上研制的，与MEM培养基相比，氨基酸的含量增加了2倍，维生素增加了4倍，同时还增加了非必须氨基酸、微量铁离子以及丙酮酸钠。

2. 产品特点：

DMEM培养基最初设计为葡萄糖含量1000 mg/L的低糖型，后来又发展出葡萄糖含量为4500 mg/L的高糖型，现已广泛应用于各种细胞的培养。DMEM高糖型普遍应用于生长快、粘附性低的细胞、杂交瘤的骨髓瘤细胞、克隆细胞、DNA转染的转化细胞、原代病毒宿主细胞、单一细胞的培养以及疫苗的生产，例如利用CHO细胞表达EPO和生产乙肝疫苗。

L-谷氨酰胺是细胞培养液体环境中所必需的一种营养成分，但其在水溶液中不稳定，易降解。丙酮酸钠可以作为细胞培养中的替代碳源，在葡萄糖不足的情况下，细胞也可以代谢丙酮酸钠。

本产品含有：D-葡萄糖(4500 mg/L)、酚红、L-谷氨酰胺、丙酮酸钠。

不含有：HEPES、双抗。



3.产品组分:

形态	液体
浓度	1 ×
规格	500 mL
PH	7.2 ~ 7.4
L-谷氨酰胺	4 mM
NaHCO ₃	3700 mg/L
D-葡萄糖	4500 mg/L
丙酮酸钠	1mM
HEPES 缓冲剂	无
酚红指示剂	15 mg/L
内毒素	≤5 EU/mL
渗透压	320~355 mOsm/kg·H ₂ O
无菌	Negative
Sp2 毒性实验	Acceptable

4.操作指南:

培养基制备

1、DMEM/HIGH GLUCOSE 培养基使用前需轻轻混匀以保证培养基均一;2、DMEM 不含蛋白质、脂质或生长因子。因此, DMEM 使用前需要补充剂, 通常加入 10% 胎牛血清 (FBS) 制成完全培养基混合使用。

3、开封的 DMEM/HIGH GLUCOSE 培养基, 可在 2~8℃ 的条件下保存 1 个月。

细胞培养的条件

- 1、如果出于防止分离的干细胞污染的考虑, 可以在使用前添加抗生素, 如终浓度为 5 µg/mL 的庆大霉素;
- 2、适用细胞系: 原代成纤维细胞、神经元、胶质细胞、HUVEC、平滑肌细胞, 以及 HeLa、293、Cos-7 和



PC-12 等细胞系；

3、细胞类型：贴壁细胞；

4、培养容器和设备：培养瓶和 CO₂ 恒温培养箱；

5、培养条件：36~38 °C，含 4~6% CO₂ 的湿润空气，避光；

6、实验前应对细胞培养仪器进行温度和气体的设置。

细胞复苏

1、在 37 °C 水浴中，迅速 (<1 min) 溶解一小管冻存的细胞。当最后一丝冰融化时，迅速从水浴中移出细胞冻存管；

2、轻轻吸出管中内容物，并转移至 50 mL 的无菌离心管；

3、缓慢加入 DMEM/HIGH GLUCOSE 完全培养基，同时轻晃离心管保证混匀；

4、室温下 100~200×g，离心5 min，然后吸去上清；

5、加入适量小体积的培养基重悬细胞，用细胞计数仪计数，计算活细胞密度；

6、在用培养基荡洗过的 T75 培养瓶中，加入适量完全 DMEM/HIGH GLUCOSE 培养基，然后加入细胞重

悬液，保证培养瓶内接种的活细胞密度约 5×10^3 个/cm²（即每个 T75 细胞培养瓶中， 3.75×10^5 个活细胞）；

7、放入培养箱中培养；

8、每 2~3 天更换一次培养基。

细胞传代

1、当细胞融合度达 70~80% 时可进行传代；

2、传代操作前请在 37°C 预热胰蛋白酶溶液；

3、吸除培养瓶中的培养基，使用不含钙镁离子的DPBS冲洗单层细胞，然后吸除漂洗液；



- 4、 每个培养瓶中加入 3~5 mL 预热的胰蛋白酶，确保液体覆盖到所有培养表面。在推荐的细胞培养条件下，培养 5~10 min；
- 5、 使用倒置显微镜观察细胞培养瓶，确保细胞完全脱落；
- 6、 然后在每个培养瓶中加入与步骤4等体积的完全培养基终止胰酶消化（消化时间过长可能会损伤细胞），然后收集液体入离心管；
- 7、 以 100~200×g，室温下离心 5 min，小心吸除上清；
- 8、 使用适量小体积的 DMEM/HIGH GLUCOSE 完全培养基重悬细胞，进行活细胞计数；
- 9、 在细胞培养瓶中加入 15 mL 的 MSC DMEM/HIGH GLUCOSE 完全培养基；
- 10、 采用 5×10^3 个/cm² 的活细胞密度铺板（即每个 T75 细胞培养瓶中， 3.75×10^5 个活细胞）；轻晃培养瓶以保证细胞分布均匀；
- 11、 将细胞放在推荐的培养条件中培养；
- 12、 每 2~3 天更换一次培养基。

5. 产品储存：

室温运输，到货后 2~8°C，避光保存，避免反复冻融，有效期 1 年，本产品已滤菌，使用前轻轻摇匀。

免责声明：本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

