

DMEM/HIGH GLUCOSE

产品说明书

一、产品描述

Dulbecco 改良 Eagle 培养基 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) 是一种广泛应用的基础培养基, 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、平滑肌细胞, 以及 HeLa、293、Cos-7 和 PC-12 等细胞系。DMEM 是在 MEM 培养基基础上研制而成。与 MEM 培养基相比, 其氨基酸含量增加了 2 倍, 维生素含量增加了 4 倍, 同时还添加了非必需氨基酸、微量铁离子和丙酮酸钠。

DMEM 培养基最初设计为葡萄糖含量 1000 mg/L 的低糖型, 随后发展出葡萄糖含量为 4500 mg/L 的高糖型, 现已广泛应用于多种细胞培养。DMEM 高糖型通常适用于生长较快、贴附性较低的细胞, 以及杂交瘤骨髓瘤细胞、克隆细胞、DNA 转染的转化细胞、原代病毒宿主细胞、单细胞培养和疫苗生产等, 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必需的营养成分之一, 但在水溶液中不稳定、易降解。丙酮酸钠可作为细胞培养中的替代碳源; 在葡萄糖不足时, 细胞也可代谢丙酮酸钠。

本产品含有: D-葡萄糖 (4500 mg/L)、酚红 (15 mg/L)、L-谷氨酰胺 (584 mg/L)、丙酮酸钠 (110 mg/L)、碳酸氢钠 (3700 mg/L)。

本产品不含: HEPES、双抗。

二、产品信息

目录号	产品名称	规格
SP03001-0500	DMEM/HIGH GLUCOSE	500 mL

三、试剂指南

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



四、操作流程

（一）培养基制备

1. DMEM/HIGH GLUCOSE 培养基使用前应轻轻混匀，以确保培养基均一。
2. DMEM 不含蛋白质、脂质或生长因子。因此，DMEM 使用前应添加适当补充剂，通常加入 10% 胎牛血清 (FBS) 制成完全培养基后使用。
3. 开封后的 DMEM/HIGH GLUCOSE 培养基可在 2~8°C 条件下保存 1 个月。

（二）细胞培养的条件

1. 如需降低细胞污染风险，可在使用前添加抗生素，例如终浓度为 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. 实验前应完成细胞培养仪器的温度和气体参数设置。

（三）细胞复苏

1. 在 37 °C 水浴中迅速 (<1 min) 溶解一小管冻存细胞。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，同时轻晃离心管以确保混匀；
4. 室温下 100~200×g，离心 5 min，然后吸去上清；
5. 加入适量小体积培养基重悬细胞，使用细胞计数仪计数，并计算活细胞密度；
6. 在经培养基荡洗的 T75 培养瓶中，加入适量完全 DMEM/HIGH GLUCOSE 培养基，再加入细胞重悬液，确保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. 置于培养箱中培养；
8. 每 2~3 天更换一次培养基。



（四）细胞传代

1. 当细胞融合度达到 70~80% 时，可进行传代；传代操作前，请在 37°C 预热胰蛋白酶溶液；
2. 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；
3. 向每个培养瓶中加入 3~5 mL 预热的胰蛋白酶，确保液体覆盖所有培养表面。在推荐的细胞培养条件下培养 5~10 min；
4. 使用倒置显微镜观察细胞培养瓶，确保细胞完全脱落；
5. 然后向每个培养瓶中加入与步骤 4 等体积的完全培养基，以终止胰酶消化（消化时间过长可能会损伤细胞），随后收集液体至离心管；
6. 以 100~200×g 室温离心 5 min，小心吸除上清；
7. 使用适量小体积的 DMEM/HIGH GLUCOSE 完全培养基重悬细胞，并进行活细胞计数；
8. 向细胞培养瓶中加入 15 mL MSC DMEM/HIGH GLUCOSE 完全培养基；
9. 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）；轻晃培养瓶以确保细胞分布均匀；
10. 将细胞放在推荐的培养条件中培养；每 2~3 天更换一次培养基。

五、附加说明

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	584 mg/L
NaHCO ₃	3700 mg/L
D-葡萄糖	4500 mg/L
丙酮酸钠	110 mg/L
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



六、免责声明与客户服务

本产品应按照产品说明书所载明的适用范围、操作方法及储存条件使用。由于不同实验体系、样本来源及操作条件可能存在差异，用户在使用前应结合自身实验目的对产品适用性进行评估与验证。对于未按说明书要求使用、超出产品适用范围使用，或因操作条件变更而导致的实验结果差异或相关影响，本公司不承担相应责任。如需技术支持或更多产品信息，请联系 SPERIKON。

