HEK293-EGFR(Nluc)人肾上皮细胞稳转株说明书

细胞到货处理建议

稳转细胞株一般交付的是混合克隆细胞系，需要通过抗性药物去进行维持或者筛选，否则稳转效率会降低，因此建议在收到细胞后可以先进行传代建库

1）**细胞培养与传代**：收到稳转株以后用含药筛浓度抗生素的完全培养基进行细胞培养与传代，建议使用无血清细胞冻存液（IMC-701）将稳转株冻存 20-30 管后再进行后续实验，以保证稳转株基因表达稳定。

2）**细胞使用周期**：取一管/瓶细胞用于实验，后续实验可以用不含抗生素的完全培养基，培养细胞 3-4 周后可以舍弃该细胞，更换冻存细胞库中新一管的稳转株。

产品基本信息

细胞名称：HEK293-EGFR(Nluc)，人肾上皮细胞系

种属来源：人

组织来源：胚胎肾

细胞形态：上皮细胞样

生长特性：贴壁生长

培养基:：90% MEM+10% FBS+PS

生长条件：气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃

传代方法：1:2 至 1:3，每周 2-3 次

冻存条件：无血清冻存液，液氮储存

支原体检测：无

注：该细胞 puro 药筛浓度为 2.0 ug/ml，培养过程中建议使用 1.0 ug/ml puro 维持；该细胞 bsd 药筛浓度为 8.0 ug/ml，培养过程中建议使用 4.0 ug/ml bsd 维持。

细胞培养操作

1）**复苏细胞**：将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加

本产品仅供科研使用

厦门逸漠生物科技有限公司
网址：www.immocell.com
电话：400-080-3389

官网 公众号 视频号

入含适量培养基的培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 6 cm 皿中，加入约 4 mL 培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。

2）**细胞传代**：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

a、弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

b、加 1 mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，使消化液浸润所有细胞，将培养瓶置于 37℃培养箱中消化 1-3 min（视细胞情况而定），然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加 2-3ml 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中，1000 rpm 离心 5 min，弃去上清液，补加 1-2 mL 培养液后吹匀。

c、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8 mL 培养基的新皿中或者瓶中，置于培养箱中培养。

3）**细胞冻存**：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例；

a、收集细胞及细胞培养液，装入无菌离心管中，1000 rpm 条件下离心 4 min，弃去上清液，用 PBS 清洗一遍，弃尽 PBS，进行细胞计数。

b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液（IMC-701），使细胞密度 5×10^6~1×10^7/mL，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。

c、将冻存管放入-80℃冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

培养注意事项

1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，若有上述现象发生请及时和我们联系。

2. **仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致**，若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。

3. 用 75%酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态。因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。**观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃培养箱放置 2-4h。**

4. **请客户用相同条件的培养基用于细胞培养。**

5. 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和我司技术部沟通交流。由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。

厦门逸漠生物科技有限公司
网址：www.immocell.com
电话：400-080-3389

官网 公众号 视频号

6.该细胞仅供科研使用。

7.**说备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 1：2 传代 。**

8.**注意： 1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿。**

厦门逸漠生物科技有限公司

网址：www.immocell.com

电话：400-080-3389

官网 公众号 视频号