

## HEK293T-EGFP/人胚肾细胞-绿色荧光蛋白标记

一、基本信息	
细胞名称	HEK293T-EGFP/人胚肾细胞-绿色荧光蛋白标记
细胞品牌	江蓝纯生物
细胞规格	1x10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管
种属来源	人
组织来源	肾
细胞形态	上皮细胞样
细胞简介	Luciferase HEK293T 细胞稳定表达绿色荧光蛋白标记。可用作绿色荧光蛋白标记活性检测中的阳性对照,也可用于活体动物成像实验。293 细胞株插入 SV40 T-抗原的温度敏感基因后产生的高转染效率的衍生株称为 293T
puro 药筛浓度	HEK293T-COGFP 细胞 puro 药筛浓度为 1.0ug/ml, 培养过程中可不用再添加 puro, 如若担心抗性随着传代时间降低, 可定期用 0.5ug/ml 浓度 puro 维持
特别注意	Caov3-LUC 细胞贴壁和细胞展开时间比较久, 传代处理后 24-48h 尽量不要移动, 防止影响贴壁。
STR 位点	CSF1PO:11,12; D13S317:12,14; D16S539:9,13; D18S51:17,18; D21S11:28,30.2; D3S1358:15,16,17; D5S818:8,9; Amelogenin:X; VWA:16,19; D7S820:11; D8S1179:12,14; FGA:23; PentaD:9,10; PentaE:7,15; TH01:7,9.3; TPOX:11

细胞代数	10代以内
生物安全等级	1
生长特性	贴壁生长
生长条件	气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37°C
保藏机构	ATCC; CRL-3216 DSMZ; ACC-635; 中国典型培养物保藏中心细胞库
培养基	90% DMEM+10% FBS+PS
冻存条件	无血清冻存液, 液氮储存
细胞货期	现货, 1周左右
供应范围	仅用于科研使用, 不得用于其它用途

## 二、细胞培养操作

### T25 瓶

收货处理	观察好细胞状态后, 75%酒精消毒瓶壁, 将 T25 瓶置于 37 度培养箱放置 2-4h, 以便稳定细胞状态
传代密度	细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养
传代比例	首次传代建议 1: 2 传代, 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
传代方法	<p><b>a</b>、弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。</p> <p><b>b</b>、加 1 mL 消化液 (0.25%Trypsin-0.02% EDTA) 于培养瓶中, 使消化液浸润所有细胞, 将培养瓶置于 37°C培养箱中消化 1-3min (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。</p>

	c、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中，置于培养箱中培养。
注意事项	<p>1. 运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。</p> <p>2. 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。</p>
<b>冻存管</b>	
收货处理	到细胞后，需立即转入液氮冻存或直接复苏
传代密度	第二天换液并检查细胞密度
传代比例	一管细胞建议接种到 10cm 培养皿或者 T25 瓶
传代方法	将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 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。
注意事项	<p>1. 收货时若发现干冰化完，检查冻存管是否融化，若已融化需直接离心细胞接种观察，若未融化可以将细胞按正常步骤保存。</p> <p>2. 为保证细胞的高存活率，收到产品后，请立即解冻复苏细胞。</p>
<b>三、细胞冻存操作</b>	
冻存液配方	无血清冻存液，液氮储存
细胞密度	待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例
冻存方法	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。

	<p>b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 <math>5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}</math>，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。</p> <p>c、将冻存管放入 <math>-80^\circ\text{C}</math> 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。</p>
注意事项	冻存细胞转入液氮后及时复苏一管检查细胞冻存活性，若有异常，及时调整实验方案

#### 四、售后服务

细胞予重发	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 细胞运输中遭遇的各种问题，细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。</li> <li>2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。</li> <li>3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。</li> <li>4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。</li> <li>5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。</li> <li>6. 细胞活性问题，请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，经核实后，重发。</li> </ol>
细胞不重发	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 客户操作造成细胞污染，不重发。</li> <li>2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。</li> <li>3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。</li> <li>4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片，不重发。</li> <li>5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。</li> <li>6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的，不重发。</li> </ol>