

## HEK293-copGFP/人胚肾细胞-绿色荧光蛋白标记

## 基本信息

细胞名称	HEK293-copGFP/人胚肾细胞-绿色荧光蛋白标记
细胞编号	ml-CC2188
细胞品牌	酶联生物
细胞简介	<p>Luciferase HEK-293 细胞稳定表达萤光蛋白。该细胞株性状稳定，培养时不需要添加抗生素维持。可用作萤光蛋白活性检测中的阳性对照，也可用于活体动物成像实验。</p> <p>该细胞通过慢病毒转染的方式携带 GFP 基因。HEK-293 细胞是剪切过的人腺病毒 5(Ad5)转染的人胚肾细胞形成的永生化细胞，HEK-293 细胞包含并表达转染的 Ad5 基因。早期报道中指出，293 HEK-293 细胞基因组中含有腺病毒 5(Ad5)基因组的左侧端和右侧端的 DNA，但是现在明确了只存在其左侧端的 DNA。经过对 Ad5 的插入点的克隆测序发现，Ad5 的 1-4344 位线性核苷酸整合入 293 [HEK-293]细胞 19 号染色体(19q13.2)。293 [HEK-293]细胞为人类腺病毒载体扩增的宿主，可表达异常的玻连蛋白的细胞表面受体，由整合素<math>\beta</math>1 亚单位和玻连蛋白受体<math>\alpha</math>-v 亚单位组成。</p>
活性检测报告	见附件 1
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	胚胎肾

细胞形态	上皮细胞样
puro 药筛浓度	HEK293-copGFP 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
细胞代数	p3-p8
生物安全等	1
生长特性	贴壁生长
培养条件	气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37°C
保藏机构	ATCC; CRL-1573 ATCC: PTA-4488 DSMZ: ACC-305 ECACC: 85120602
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
发货方式	复苏发货 (T25 瓶免运输费用) / 冻存发货 (需加干冰运输费用)
供应范围	仅限于科研实验使用, 不可用于其它用途

## 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：**

- 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-0.02%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 1-3 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, 用胰酶轻轻吹下来后, 迅速后加 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。

**注意事项：**

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。
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。

**冻存管****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）第三天换液并检查细胞密度。

### 注意事项：

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。
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。

## 细胞冻存操作

### 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，加 1 mL 血清重悬细胞，进行细胞计数。
- b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度  $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}$ ，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1 mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。
- c、将冻存管放入 -80°C 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。

## 注意事项：

冻存细胞转入液氮后及时复苏—管检查细胞冻存活性，若有异常，及时调整实验方案

## 售后服务

### 细胞予重发

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。
2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。
3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。
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。
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。
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。

### 细胞不重发

1. 客户操作造成细胞污染，不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。
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。
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。
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。

## 特别说明

客户买细胞就找**上海酶联生物**，稳定传代，无污染，包存活，提供整体课题外包服务，光学成像，流式实验，电镜实验，动物实验，病理实验，分子生物学实验，细胞实验等，严格把控产品质量，所有细胞产品均有细胞鉴别、无菌检查、支原体检查，为科研人员提供可靠放心的产品。

## 附件 1(HEK293-copGFP 活性检测报告)

### 检测细胞

HEK293-copGFP

### 实验仪器及耗材

名称	来源
荧光显微镜	Motic
倒置显微镜	Motic
培养皿	Nest
移液器	Thermo

### 实验步骤:

#### A.显微镜观察

1. 消化下细胞并计数，将之重悬为  $1 \times 10^6$ /mL，铺 2mL 到新的六孔板中。
2. 待 24h 贴壁后，置于荧光显微镜下观察拍照。

## 检测结果:

### 荧光结果

