

细胞介绍

293T/17 细胞株是 293T 细胞株的衍生株，293T 是 293 [HEK-293]细胞株插入了 SV40 T-antigen 的温度敏感基因形成的高转衍生株。293T 细胞进行克隆，检测 pBND 和 pZAP 载体，得到一株能生成高滴度感染逆转录病毒的衍生株 293T/17 细胞。293T/17 细胞持续表达猿病毒 40 (SV40) 大 T 抗原，而因其高转染能力筛选到 17 号克隆。293T/17 细胞用 pCRIPenv-和 pCRIPgag-2 载体转染得到 ANJOU65 细胞株，ANJOU65 细胞再用 pCRIPgag-2 和 pGPT2E 载体转染得到亲宅性外壳表达细胞株 BOSC 23。ANJOU65 细胞用携带 gpt 抗性基因的 pCRIPAMgag 载体转染得到 Bing 双向性表达包装细胞株。

细胞特性

- 1) 来源：人胚胎肾脏
- 2) 形态：上皮细胞样，贴壁生长，贴壁能力较弱
- 3) 含量： $>5 \times 10^5$ 细胞数
- 4) 规格：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途：仅供科研使用。

我们发货的是一瓶 T25 瓶，一管 15ml 的离心管：

T25 瓶到货处理：

需收集 T25 瓶中脱落的悬浮细胞，离心后用完全培养基重悬后打回到原培养瓶中继续培养，若细胞生长 70%-90%对细胞进行传代，传代时需要收集培养基中悬浮的细胞离心后回收。注意首次需 1:2 传代（一个 T25 瓶传到两个 T25 瓶）

15ml 离心管 293T/17 到货处理：

离心管中细胞为一个 T25 长满后消化所得，老师拿到后可将细胞吹打均匀，1: 2 分到 2 个 T25 瓶中培养。离心管中培养基为完全培养基，可直接用于培养 293T/17 细胞。

细胞接收后的处理：

- 1) 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于室温下放置约 1h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们。
- 2) 请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。
- 3) 半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞：T25 瓶置于室温下约 1h，显微镜下观察细胞的情况，若细胞密度在 60%以下，客户需收集 T25 瓶中的悬浮细胞离心后用完全培养基重悬后打回到原培养瓶中继续培养，若细胞生长 70%-90%对细胞进行传代，传代时需要收集培养基中悬浮的细胞离心后回收。
- 4) 备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说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 T25 培养瓶 1: 2 传代。

上海葵赛生物科技有限公司

中国（上海）自由贸易试验区巴圣路 160 号 8 号楼 3 单元 6005 电话：13636346891

QuiCell葵赛生物

一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 准备 DMEM 培养基, 特级胎牛血清 10% , 双抗 1%
- 2) 培养条件: 气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。 温度: 37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。
- 3) 冻存液: 无血清细胞冻存液。

二. 细胞处理:

1) 冻存细胞的复苏:

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻, 加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min, 弃去上清液, 完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶(或皿)中 37℃ 培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2) 细胞传代: 如果细胞密度达 70%-90%, 即可进行传代培养。

该细胞为悬浮和轻微的贴壁细胞, 传代可以参考以下方法:

1. 收集: 将培养瓶中的悬浮的细胞收集到离心管中。用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。由于细胞贴壁不牢 PBS 润洗后细胞会脱落所以 PBS 也要回收离心管中。

2. 加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1mL) 置于 37℃ 培养箱中**消化 2 分钟(难消化的细胞可以适当延长消化时间)**, 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入 **5ml 含 10%FBS 的培养基来终止消化。**

3. 将收集到的悬浮细胞、pbs 清洗液中的细胞和消化下来的贴壁细胞以 1000rpm 离心 5min, 弃去上清, 补加 1-2mL 培养液后重悬混匀后将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新 T25 瓶中, 添加 6-8ml 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力, 后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

3) 细胞冻存: 收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例:

1. 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中, 可使用血球计数板计数, 来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml。

2. 1000rpm 离心 3-5min, 去掉上清。用无血清细胞冻存液重悬细胞, 按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中, 标注好名称、代数、日期等信息。

3. 将要冻存的细胞置于程序降温盒中, -80 度冰箱中过夜, 之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

注意事项:

1. 所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性, 必须在二级生物安全台内操作, 并注意防护, 所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
2. 建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意: 冻存管浸没在液氮中会泄漏, 并会慢慢充满液氮。解冻时, 液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子, 从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。

上海葵赛生物科技有限公司

中国(上海)自由贸易试验区巴圣路 160 号 8 号楼 3 单元 6005 电话: 13636346891