

CRE-Luci 细胞株 (293)

Cat No.: CS003

产品说明: cAMP 反应原件 (cAMP Response Elements, CRE) 是转录因子 CRE 结合蛋白 (CREB) 识别的 DNA 调控原件。CRE 信号通路参与细胞增殖、心率调控等多种生物功能。
CRE-Luci 稳转细胞株采用 293V 细胞株构建, 通过慢病毒稳定转入 CRE 控制表达的 luciferase 基因。CRE 激活启动 luciferase 表达, 通过检测 luciferase 活性可以灵敏地反应 CRE 通路的状态。

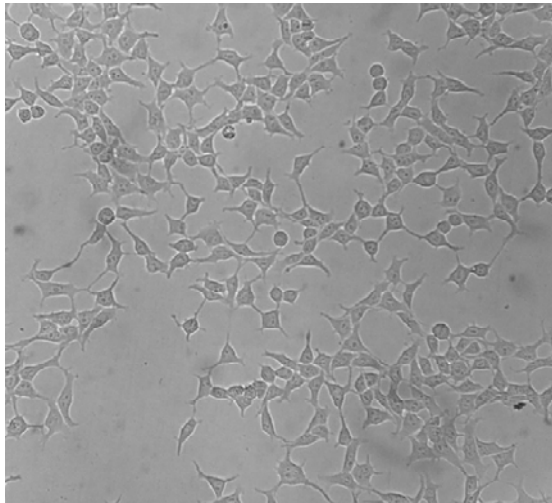
产品资料: 品名: CRE-Luci 细胞株 (293)
货号: CS003
原始细胞株: HEK293V (HEK293T 亚克隆)
所用载体: pLV-CRE-Luci (VL4102)
构建方法: 慢病毒转染构建 单克隆筛选
抗性: puromycin
克隆属性: 单克隆细胞株

产品包装: 1×10^6 细胞/支, 1 支。干冰运输。

产品验收注意事项:

- 1、细胞收到时应该是冻存状态, 并且有干冰保护。如果收到货时细胞已融化, 请立即联系我们。
- 2、我们建议您收到产品后立刻储存于液氮, 或者对细胞进行复苏, 扩增培养并大量冻存。不可保存于 -20°C 、 -80°C 冰箱。
- 3、由于运输影响, 细胞复苏后 1 到 3 代可能出现形态异常, 生长缓慢等情况。请传代培养 2-3 代, 待细胞恢复正常再进行实验。

细胞形态:



细胞培养基: DMEM 高糖培养基+10%FBS, Penicillin 100ug/ml, Streptomycin 100ug/ml
注意: 采用质量可靠的血清非常重要!

方法:

试剂配制: 培养基: DMEM 高糖培养基+10%FBS, Penicillin 100ug/ml, Streptomycin 100ug/ml
漂洗液: PBS
消化液: 0.25%胰蛋白酶+0.5mM EDTA, 溶解于 PBS
冻存液: DMEM 高糖培养基+40%FBS+10%DMSO

初始培养 (细胞复苏及培养): 收到细胞请立即复苏。初步检查无污染、细胞存活后请扩大培养, 冻存足量细胞以备以后实验使用。

- 1、 准备 37°C 恒温水浴, 细胞培养基, 60mm 细胞培养皿或者 25cm 培养瓶。
- 2、 将细胞冻存管放入 37°C 水浴中快速融化, 期间不断晃动冻存管加速溶解。
- 3、 3000g 室温离心 5min。
- 4、 用 70%乙醇清洁冻存管外壁。在超净工作台中弃去上清液。
- 5、 用 1ml 培养基轻轻吹吸重悬细胞沉淀。接种到已准备细胞培养皿, 补足培养基至 5ml。
- 6、 37°C, 5% CO₂ 培养 24h, 观察细胞贴壁情况。
- 7、 48h 后根据细胞密度换液或传代。
- 8、 以后每 2-3 天传代一次。当细胞达到 5×10^6 个 (约 1 个 10cm 培养皿的量), 准备冻存液冻存细胞。剩余细胞用于实验。

注意事项: 生长密度对于 293 细胞很重要。细胞密度达到 90% (大部分细胞相互接触, 细胞间有少量间隙) 时需要及时传代。生长过密会造成细胞状态不可逆变差。

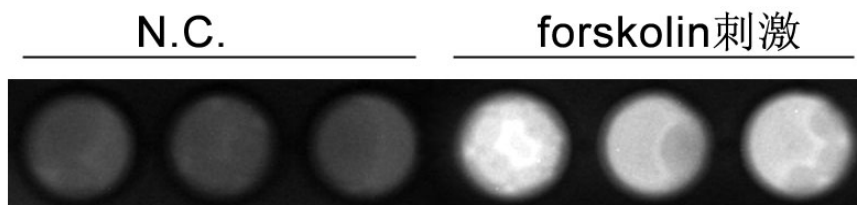
细胞冻存:

- 1、 消化生长良好的细胞, 用细胞培养基重悬, 细胞密度为 1×10^6 /ml 左右。
- 2、 加入等体积的 2×冻存液 (80%FBS+20%DMSO)。轻轻吹吸混匀。
- 3、 分装到冻存管中。放入程序降温盒过夜。
- 4、 将细胞转移到液氮罐中。

功能实验: Forskolin 可以提高细胞内 cAMP 基因水平, 激活 CRE 信号通路。

- 1、 实验前一天将细胞株接种到 24 孔板。培养 24h。
- 2、 加入 Forskolin (终浓度 5uM), 培养 6h。
- 3、 按照荧光素酶检测试剂盒说明收集细胞, 并加入反应底物进行活性检测。

用化学发光成像仪检测结果见下:



CRE-RE-Luci 细胞株功能检测实验结果。细胞用 forskolin 5uM 刺激 6 小时, 收集细胞裂解后加入萤火虫荧光素酶反应底物, 化学发光成像仪成像。