

ER-EGFP 稳定表达 293 细胞株说明书

品名: ER-EGFP 293V 细胞

货号: CY005

包装: $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 1 支

细胞株类型: 稳定表达 ER-EGFP 融合荧光蛋白多克隆细胞株

细胞来源: HEK293V 细胞 (人胚肾细胞)

表达基因: ER-EGFP 融合蛋白

抗性: 嘌呤霉素

培养基: DMEM (gibco 货号: 12100-061) 高糖培养基+10%FBS

消化液: 0.25%胰蛋白酶, 0.53mM EDTA

冻存液: 50%胎牛血清, 40%DMEM, 10%DMSO

培养条件: 37°C, 5% CO₂

产品简介:

ER-EGFP 293V 细胞稳定表达钙网蛋白 (GeneID: 811) N 端 17AA 信号肽和 EGFP 的融合蛋白, 定位于细胞内质网, 内质网为绿色荧光蛋白标记, 可用于内质网定位实验或者内质网定位基因的研究。

细胞株构建方法:

慢病毒载体 pLV-ER-EGFP (货号 VL3504) 包装慢病毒后感染 293 细胞, 用嘌呤霉素筛选得到多克隆细胞株。

收到细胞的处理:

根据客户所在地及发货季节, 我们可能采用干冰运输的冻存细胞或者常温运输的培养瓶细胞两种不同形式发货。收到细胞后根据细胞运输类型采用下面两种方式操作。

干冰运输细胞:

- 37°C 水浴融化细胞冻存液, 间或摇动冻存管以加速融化过程。待细胞冻存液完全融化后, 用 70%乙醇消毒细胞冻存管外壁。
- 室温 200g 离心 5 分钟收集细胞。吸去上清。
- 用 1ml 培养基重悬细胞。
- 将细胞接种到 6mm 培养皿或 25cm 培养瓶中, 补加 5ml 培养基, 37°C 5%CO₂ 培养。

常温运输细胞:

- 3000g 10min 室温离心收集细胞。
- 用细胞培养基轻柔吹吸重悬细胞。

- 接种到 25cm 培养瓶或 60mm 培养皿, 补足培养基到 5ml。
- 放到细胞培养箱, 37°C 5%CO₂ 培养过夜。
- 第二天观察细胞贴壁情况, 换液去除未贴壁细胞, 继续培养。
- 细胞生长后及时消化传代, 尽早冻存 1~2 支。

细胞传代:

- 传代前将细胞培养液、PBS 和胰蛋白酶温浴到 37°C。
- 吸去细胞培养液。
- 用 PBS 漂洗一次。
- 加入适量胰蛋白酶, 轻轻晃动细胞瓶, 使胰蛋白酶均匀覆盖细胞。吸去胰蛋白酶, 将培养瓶放置在细胞培养箱中, 37 摄氏度消化。在倒置显微镜下观察, 看到细胞分开及稍微变圆即可, 过度消化可能导致细胞贴壁困难。
- 加入 5ml 细胞培养基, 用吸管轻柔吹打分散细胞。
- 按 1:3 到 1:5 接种细胞。

细胞冻存:

- 将细胞培养液、PBS 和胰蛋白酶和冻存液温浴到 37°C。
- 冻存的细胞应为状态好, 生长旺盛的细胞。
- 按细胞传代方法消化细胞, 用适量细胞培养液终止消化, 重悬细胞。
- 室温 200g 离心 10 分钟收集细胞, 用冻存液重悬细胞, 并调节浓度至大约 1×10^6 个细胞/ml。分装到细胞冻存管。
- 将细胞冻存管放入程序降温盒, -80°C 过夜。
- 将冻存的细胞转入液氮中。

