

293T/17 人胚肾细胞

培养说明书

名称	293T/17 人胚肾细胞
种属	人类
组织来源	肾
生长特性	贴壁细胞
细胞形态	上皮细胞样
背景描述	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 pCRIPen- 和 pCRIPgag-2 载体转染得到 ANJOU65 细胞株，ANJOU65 细胞再用 pCRIPgag-2 和 pGPT2E 载体转染得到亲本性外壳表达细胞株 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。
培养体系	DMEM+10% FBS+1% P/S
传代比例	1:3-1:4
换液频率	2~3 次/周
冻存条件	冻存液：55% 基础培养基+40%FBS+5%DMSO 温度：液氮
培养条件	95% Air;5% CO ₂ ;37° C
备注	建议收到细胞后，尽快更换新的培养液或传代

*本库的细胞系（株）仅用于科研工作，未经许可不得用于其他目的。

复苏细胞接收后如何处理

1. 收到细胞后, 请及时检查并拍照记录是否瓶身破损或有无漏液, 培养液是否混浊等, 如有请及时反馈。
2. 用 75% 酒精消毒瓶身, 放 37°C 培养箱中静置 2-4h 后, 显微镜下观察细胞状态并拍照记录(所拍照片将作为后续售后依据)。
3. 若细胞生长密度超过 80% 以上, 可直接消化传代; 若密度低于 80% 时, 移除细胞培养瓶内培养基, 预留 8-10ml 原瓶培养基继续培养, 直到细胞密度 80% 左右再进行传代操作, 注意拧松瓶盖或更换透气瓶盖。
4. 若有贴壁细胞漂浮的, 可收集上清离心, 将沉淀用新的培养基接种至新的培养瓶或培养皿中。
5. 建议收到当天不要消化处理, 如果细胞长满 90%, 可选择传代处理。
6. 若收到细胞异常时, 请及时与我们联系, 对于细胞培养操作及培养注意事项有疑问的, 可跟我们的技术支持交流。

冻存细胞接收后如何处理

1. 干冰运输, 收到细胞后立即转入 -80°C 冰箱短暂中转或直接复苏;
2. 收到细胞后, 若发现干冰已经完全挥发、冻存管瓶盖破裂脱落, 请及时拍照后与我们联系。

细胞培养基本步骤

1. 细胞传代: 细胞密度达到 80-90% 时即可传代培养
 - ① 弃去培养上清, 用 PBS 或生理盐水清洗 1-2 次;
 - ② 加入 1-2ml 0.25% 胰酶 (T25 瓶), 使胰酶覆盖整个瓶或皿, 盖好放入 37°C 培养箱消化;
 - ③ 1-2min 后, 显微镜下观察细胞, 若大部分细胞回缩且有少量细胞脱落, 轻轻吹打下确认消化情况后加入完全培养基终止消化; 若细胞还是贴壁, 放回培养箱继续消化至可以轻轻吹打下为止;
 - ④ 将细胞悬液 1000RPM 左右条件下离心 4min, 弃上清;
 - ⑤ 用新鲜培养基重悬后加入培养瓶或皿中, T25 培养瓶加 6-8ml 培养基;
 - ⑥ 悬浮细胞直接离心收集, 细胞沉淀重悬后分到新培养瓶中。
2. 细胞复苏:
 - ① 将冻存管在 37°C 温水中快速摇晃融化, 时间 1min 左右, 加入 4-5ml 培养基混匀。
 - ② 在 1000RPM 左右条件下离心 4min, 弃上清, 加 1-2ml 培养基吹匀, 将细胞悬液加入培养瓶中, 补加适量培养基。
3. 细胞冻存: 待细胞生长状态良好时进行细胞冻存保种
 - ① 弃去培养上清, 用 PBS 或生理盐水清洗 1-2 次, 加入 1mL 0.25% 胰蛋白酶 (T25 瓶)
 - ② 1-2min 后, 显微镜下观察细胞, 大部分细胞回缩且有少量细胞脱落, 轻轻吹打下确认消化情况后加入完全培养基终止消化;
 - ③ 将细胞悬液 1000RPM 左右条件下离心 4min, 弃上清, 加 1ml 冻存液重悬细胞;
 - ④ 将冻存管放入程序降温盒, 放入 -80°C 冰箱, 4 小时后将冻存管转入液氮罐储存。