

人胚肾细胞293T



Cat No. : SC0165

细胞名称	人胚肾细胞293T	英文名称	293T
形态特性	上皮细胞样	生长特性	贴壁生长
种属	人		
组织	人胚胎肾		
培养体系	DMEM+10% FBS+1% P/S 气相: 空气, 95%; CO ₂ , 5%。 温度: 37℃		
STR	CSF1P0: 11, 12 D13S317: 12, 14 D16S539: 9, 13 D5S818: 8, 9 D7S820: 11 TH01: 7, 9.3 TPOX: 11 vWA: 16, 19		
简介	293细胞株插入SV40T-抗原的温度敏感基因后产生的高传染效率的衍生株称为293T。293T 细胞系, 最初称为293tsA1609neo, 用于生产逆转录病毒时, 它会产生高滴度。它已广泛用于逆转录病毒生产、基因表达和蛋白质表达。		
传代方法	建议第一次1:2传代		
冻存条件	90 FBS+10% DMSO, 推荐无血清冻存液 (CX001)		
用途	仅限于科学研究, 不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。		
备注	<p>293系列细胞贴壁性较差; 如有脱落, 可参照以下步骤进行培养</p> <p>将培养瓶内所有培养基转入无菌离心管, 离心收集细胞(1200rpm 3min) 去除旧培养基; 用PBS重悬细胞, 将所有细胞收集到一个离心管中, 再次离心(1200rpm 3min) 去除PBS;</p> <p>加入1ml左右0.25%胰酶重悬细胞, 混匀即可, 不能吹打太多次, 放入培养箱消化细胞, 根据细胞特性决定消化时间约1~2分钟;</p> <p>消化好后, 用移液枪轻轻吹打细胞悬液, 使细胞团分散, 迅速加入3-5ml含血清的培养基混匀以终止消化, 离心(1200rpm 3min) 去除胰酶;</p> <p>加入5ml左右的细胞相应的完全培养基混匀, 按比例接入无菌培养瓶/皿中;</p> <p>显微镜下观察看细胞是否成均匀分散的单细胞, 若有3-5个成团的小细胞团可不用重新消化, 使之贴壁后待细胞生长稳定后再消散细胞。</p>		

一、细胞收到后处理

请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。

收到细胞回到自己的实验室后, 先打开外包装, 用75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到超净台内, 严格无菌操作, 不开瓶盖放培养箱静置2-3小时稳定细胞状态。镜下观察: 未超过80%汇合度时, 可将瓶装的完全培养液收集至离心管中, 重新加入6ml完全培养基, 放入37℃、5%CO₂孵箱培养; 超过80%汇合度时, 根据情况传代或者冻存。悬浮细胞需离心收集处理。抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心3-5分钟, 弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中(加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基)。

(注意发货的是密封培养瓶的话, 处理完后放入培养箱培养记得培养瓶盖子拧松, 初次传代最好使用T25培养瓶或6cm小皿1传2)

二、细胞培养步骤

1. 复苏细胞：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5mL培养基混合均匀。在1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加4-6mL完全培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜(或将细胞悬液加入6cm皿中)，培养过夜。第二天换液并检查细胞密度。

2. 细胞传代：如果细胞密度达80%-90%，即可进行传代培养。

对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

1： 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。

2： 加1-2ml消化液(0.25%Trypsin-0.53mM EDTA)于培养瓶中，置于37℃培养箱中消化1-2min，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5ml以上含10%血清的完全培养基终止消化。

3： 轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出悬液至15ml离心管中，在1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀。

4： 将细胞悬液按1：2到1：5的比例分到新的含5-6 ml培养液的新皿中或者瓶中。

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法：

1： 收集细胞，1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀，将细胞悬液按1：2到1：5的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。

2： 较脆弱的悬浮细胞可选择半数换液方式将培养瓶竖置1-2小时待大部分细胞沉到底部后，弃去半数培养基后，将剩余细胞悬起，将细胞悬液按1：2到1：3的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。

3： 细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，进行离心收集，1000RPM条件下离心3-5分钟，去除上清，按冻存数量加入血清及DMSO，冻存比例为90%FBS+10%DMSO。