维根生物科技有限公司
Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenCell®
Tel: 183 628 99236
E-mail: 253540644@qq.com

# GL261-BSD+hCD19(Opt) 稳转株说明书

## 一、基本信息

| | |
|---|---|
| 英文名称 | GL261-BSD+hCD19(Opt) polyclonal stable cell line |
| 中文名称 | hCD19(Opt) 过表达 GL261 稳转株 |
| 产品货号 | VGC-0539-054P |
| 稳转基因 | 名称：Homo sapiens CD19 molecule (CD19)<br>蛋白序列：NP_001761 |
| 荧光蛋白 | 无 |
| 细胞株抗性 | BSD R（杀稻瘟菌素抗性） |
| 细胞株类型 | 混合稳转（✓）；单克隆株（x） |
| 细胞形态 | 成纤维细胞样，贴壁生长 |
| 细胞规格 | $1 \times 10^6$ 细胞冻存细胞或 T25 细胞瓶细胞 |
| 完全培养基 | DMEM-H + 10% FBS |
| 培养条件 | (1) 气相：95%空气，5% $CO_2$；(2) 温度：37 ℃ |
| 传代方法 | 建议 1：2～1：3 传代，每 2～3 天传代或换液一次。 |
| 细胞冻存 | 无血清冻存液（VGA-0046-0100）; - 80 ℃短期保存；液氮长期保存 |
| 运输条件 | 活细胞常温运输或冻存细胞干冰运输 |
| 备注信息 | 如混合稳转细胞株带抗性基因，建议每传 8～10 代用相应抗性药物筛选一次 ( 10 μg/mL )；或在细胞培养过程中添加适当浓度的抗性药物以维持细胞株阳性率( 1 μg/mL )。 |

# 二、细胞到货处理

## 1、常温到货细胞

**1.1** T25 细胞培养瓶寄送活细胞（**细胞处于培养液中**）的处理方法：

**a)** 观察细胞培养瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象。若有，请拍照，并及时与技术支持联系。

**b)** 用 75%酒精擦拭细胞培养瓶表面，显微镜下观察细胞状态。若因运输问题，部分贴壁细胞从瓶壁脱落,先不要打开培养瓶盖，将细胞置于细胞培养箱内静置培养 2～4 小时，以便稳定细胞状态。

**c)** 静置完成后，取出细胞培养瓶，镜检、拍照，记录细胞状态，如有异常现象，例如污染，细胞状态差等，请拍照留证并及时与技术支持联系。

**d)** 仅留适量细胞培养液（弃去多余），然后将细胞置于 37 ℃，5% CO2 培养箱培养。

**e)** 根据细胞习性及时换液、传代、冻存细胞。

**1.2** 冻存管寄送活细胞（**细胞处于全血清中**）的处理方法：

**a)** 用 75%酒精彻底消毒细胞冻存管，然后在超净工作台将细胞悬液转移至 15 mL 无菌离心管，500 g，室温离心 5 min。

**b)** 弃血清，用完全培养基重悬细胞沉淀。

**c)** 细胞接种于合适的细胞培养皿或培养瓶，然后置于 37 ℃，5%CO2 培养箱培养。

**d)** 次日观察细胞形态，如有异常现象，例如污染，细胞状态差等，请拍照留证并及时与技术支持联系。

**e)** 根据细胞习性及时换液、传代、冻存细胞。

## 2、干冰运输细胞

**a)** 将细胞从干冰中取出后立即置于 37 ℃水浴，轻轻转动冻存管，直至管内细胞完全融化（最好在 1～2 min 内解冻）。

**b)** 将冻存管转移到超净工作台，用 75% 酒精彻底消毒冻存管。

**c)** 将解冻细胞转移到 15 mL 无菌离心管，500 g，室温离心 5 min。

**d)** 弃细胞冻存液，用完全培养基重悬细胞沉淀。

**e)** 将细胞接种于合适的细胞培养皿或培养瓶，然后置于 37 ℃，5% CO2 培养箱培养。次日观察细胞形态，如有异常现象，例如污染，细胞状态差等，请拍照留证并及时与技术支持联系。

**f)** 根据细胞习性及时换液、传代、冻存细胞。

## 三、细胞培养

### 1、细胞复苏

将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37 ℃水浴中快速摇晃至溶解，然后在超净工作台将细胞转移至 15 mL 无菌离心管，加入 4 mL 培养基或无菌 PBS 混合均匀，室温，500 g，离心 5 min，弃上清液，用完全培养基重悬细胞，将细胞移入培养瓶或培养皿培养，第二天更换培养液并检查细胞生长情况。

### 2、细胞传代

2.1 贴壁细胞传代：当细胞密度约 80%时，可进行传代培养：

a) 吸出原培养皿中的培养基，PBS 缓冲液润洗细胞两次，加 2～3 mL 0.25%胰酶进行消化（注意根据实际情况，把握消化时间）。

b) 镜下观察消化情况，在细胞边缘缩小，贴壁松动时（可用吸管吸起些许胰酶轻轻吹打细胞层某处，即可肉眼可见细胞层脱落，或吹打后镜下观察吹打处，即消化完成，否则继续消化）直接吸掉胰酶，加 3 ～ 4 mL 完全培养基，轻轻吹打细胞层，把细胞层吹落，吹散。

c) 取部分细胞悬液转移至新的培养皿中，添加适当的完全培养基，把细胞悬液打匀，于培养箱中培养。

2.2 悬浮细胞传代：当细胞密度约 80%时，可进行传代培养：

**a)** 直接将原培养液和细胞一起转移至 15 mL 或 50 mL 无菌离心管，400～500 g 室温离心 5 min，吸掉培养基，用新鲜完全培养基重悬细胞。

**b)** 根据细胞生长特性，按合适比例传代细胞，将细胞悬液转移至新的培养皿或培养瓶，将细胞置于 37℃培养箱中培养。

**3、细胞冻存**

收集细胞，500 g，离心 5 min，弃上清液，加入无血清冻存液（VGA-0046-0100）轻轻悬浮细胞，移入冻存管后进行冻存。

## 四、使用须知

1）本产品仅供购买方单方使用，不得向任何第三方赠送、转让或销售；

2）本产品仅供实验室和体外研究使用，不能用于任何临床检验、诊断、治疗，或任何非法用途；

3）收货 48 h 内如若发现异常，请及时联系售后，逾期视为收货良好；

4）请严格按照本说明书操作，否则造成细胞失活等情形，不予提供补发服务。

## 五、细胞株质检

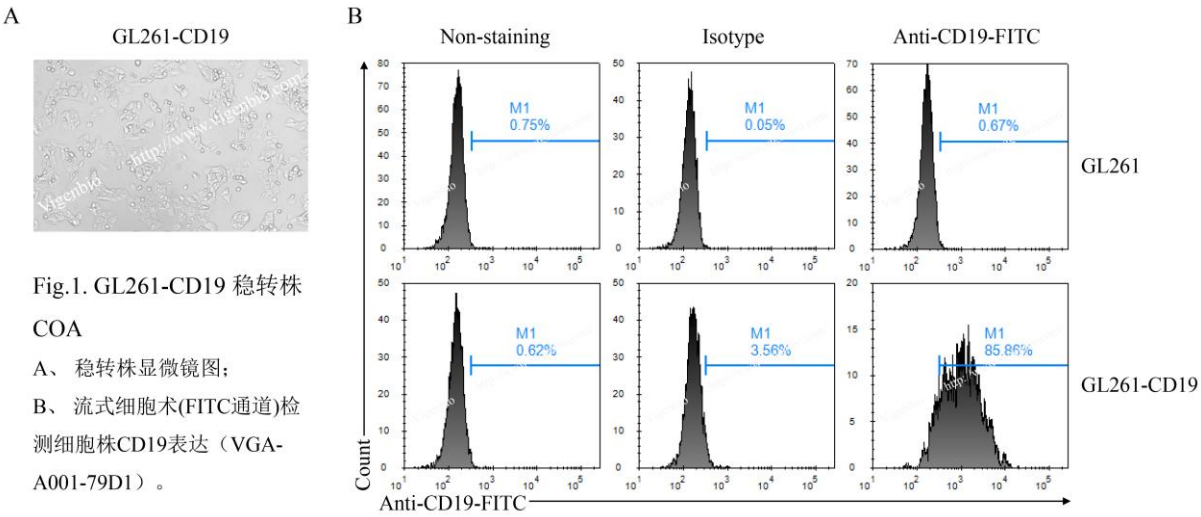



Fig.1. GL261-CD19 稳转株 COA

A、 稳转株显微镜图；

B、 流式细胞术(FITC通道)检测细胞株CD19表达（VGA-A001-79D1）。