

### 冻存细胞收货后处理方法:

1. 收到细胞后, 首先观察泡沫箱中干冰是否有剩余, 冻存管是否完好, 是否有解冻情况。若发现干冰完全汽化或冻存管有解冻现象, 请及时拍照并与我们联系。如果细胞签收三天内未与我们联系, 则默认为收货良好。
2. 细胞在液氮中可长期保存;  $-80^{\circ}\text{C}$  保存不要超过一个月, 长期在  $-80^{\circ}\text{C}$  可能会导致细胞活率下降。
3. 复苏第一管细胞后, 如有活性、状态问题及时与我们联系。

## HEK293 细胞说明书

### 细胞背景

293 [HEK-293] 细胞是剪切过的人腺病毒 5 (Ad5) 转染的人胚肾细胞形成的永生化细胞, 293 [HEK-293] 细胞包含并表达转染的 Ad5 基因。早期报道中指出, 293 [HEK-293] 细胞基因组中含有腺病毒 5 (Ad5) 基因组的左侧端和右侧端的 DNA, 但是现在明确了只存在其左侧端的 DNA。经过对 Ad5 的插入点的克隆测序发现, Ad5 的 1-4344 位线性核苷酸整合入 293 [HEK-293] 细胞 19 号染色体 (19q13.2)。293 [HEK-293] 细胞为人类腺病毒载体扩增的宿主, 可表达异常的玻连蛋白的细胞表面受体, 由整合素  $\beta 1$  亚单位和玻连蛋白受体  $\alpha -v$  亚单位组成。

### 细胞信息

- 细胞名称: HEK293 [HEK-293T] (人胚肾细胞) (STR 鉴定正确)
- 细胞别称: Hek293; HEK-293; HEK 293; HEK:293; 293; 293 HEK; Human Embryonic Kidney 293
- 种属: 人
- 形态特性: 上皮样细胞。
- 生长特性: 贴壁生长

### 培养条件

- 培养基: DMEM+10% FBS+1% P/S
- 培养温度:  $37^{\circ}\text{C}$ 。
- 气体环境: 95% 空气, 5%  $\text{CO}_2$ 。
- 培养箱湿度: 70% - 80%。
- 传代比例: 1:3-1:6
- 换液频次: 2-3 次/周

## 细胞操作

### • 细胞复苏：

提前取出 1 支细胞洗涤液和 1 支细胞复苏液，放在 37°C 水浴锅中解冻。将细胞冻存管从液氮中取出，**迅速**置于 37°C 水浴中解冻。解冻后立即将细胞悬液转移到睿必特™洗涤液管中，轻轻混匀。将离心管置于水平离心机中，2000rpm 离心 5 分钟，弃去上清。再加入 5-6ml 睿必特™复苏液，用滴管轻轻吹打成单细胞悬液，避免气泡。将细胞悬液转移至 T25 细胞培养瓶中，置于二氧化碳培养箱中培养。

### • 细胞传代：

1. 当细胞汇合度达 80-90%，即可进行传代培养。
2. 弃去旧培养基，用不含钙、镁离子的 PBS 轻轻润洗细胞 1-2 次。
3. 加 1-2 mL 消化液 (0.25 % Trypsin-0.53 mM EDTA) 于培养瓶中，常温或者 37 °C 消化 1-2 min，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，加 5 ml 以上含 10% 血清的完全培养基终止消化轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出至离心管中，轻轻吹打成单细胞悬液，2000 rpm 离心 5 min 弃去上清液。
4. 按 5-6 mL/瓶补加完全培养基，将细胞悬液按 1:2 的比例分到新的含 5-6 mL 完全培养基的培养皿中或者培养瓶中。

## 注意事项

1. 该细胞贴壁松散，操作时请尽量轻柔；换液时需预热培养基；
2. 所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
3. 建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。