



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

U87 MG-EGFRvIII(FL)·3×Flag-GFP+ffluc 稳转株说明书

一、基本信息

英文名称	U87 MG-EGFRvIII(FL)·3×Flag-GFP+ffluc polyclonal stable cell line
中文名称	EGFRvIII 过表达 U87 MG 稳转株
产品货号	VGC-0039-036PP
稳转基因 1	名称: Homo sapiens epidermal growth factor receptor (EGFR), transcript variant EGFRvIII 序列: NM_001346941.2
稳转基因 2	名称: 萤火虫荧光素酶, Firefly luciferase, ffluc 序列: MK484108.1
荧光蛋白	GFP
细胞株抗性	Neo R (新霉素抗性) + Puro R (嘌呤霉素抗性)
细胞株类型	混合稳转 (✓); 单克隆株 (x)
细胞形态	上皮细胞样, 贴壁生长
细胞规格	1 × 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 °C
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 °C 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



www.vigenbio.com



Technical Support



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 (新霉素: 1 mg/mL ; 嘌呤霉素: 1.5 ~ 2 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 (新霉素: 0.1 mg/mL ; 嘌呤霉素: 0.15 ~ 0.2 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 °C，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 °C，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





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

- a) 将细胞从干冰中取出后立即置于 37 °C 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 °C，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 °C 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：



www.vigenbio.com



Technical Support



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

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°C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

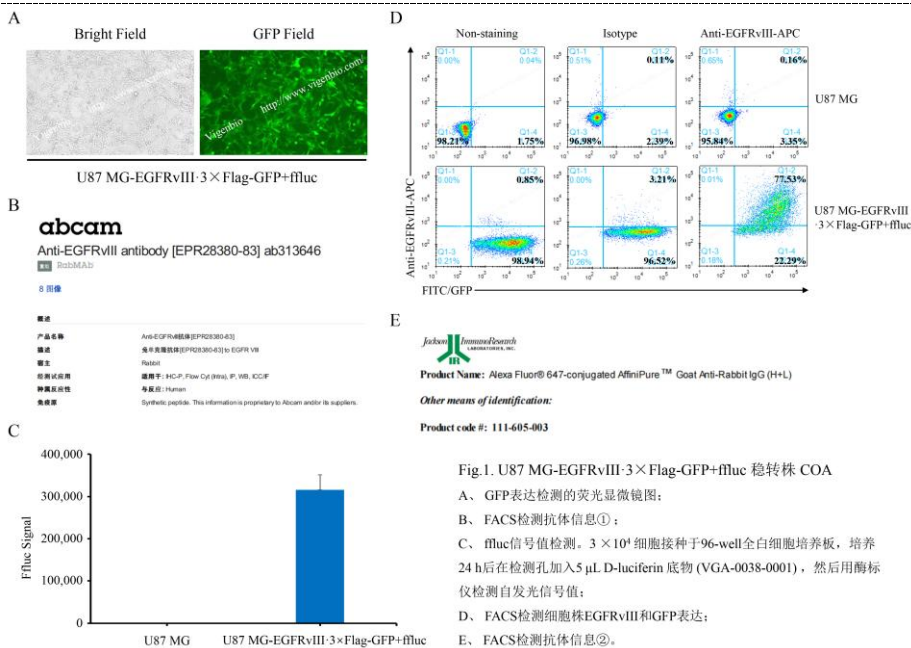


Fig.1. U87 MG-EGFRvIII-3×Flag-GFP+fluc 稳转株 COA

- A、GFP表达检测的荧光显微镜图;
- B、FACS检测抗体信息①;
- C、fluc信号值检测。3 × 10⁴ 细胞接种于96-well全白细胞培养板, 培养 24 h后在检测孔加入5 μL D-luciferin 底物 (VGA-0038-0001), 然后用酶标仪检测自发光信号值;
- D、FACS检测细胞株EGFRvIII和GFP表达;
- E、FACS检测抗体信息②。



www.vigenbio.com



Technical Support