



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

K562-4-1BBL(h)-mbIL21(h)·Myc+mbIL15(h) 稳转株说明书

一、基本信息

英文名称	K562-4-1BBL(h)-mbIL21(h)·Myc+mbIL15(h) polyclonal stable cell line
中文名称	过表达膜定位人 IL21 基因、4-1BBL 基因和 IL15 基因的 K562 稳转株
产品货号	VGC-0001-031SP
稳转基因 1	名称: Homo sapiens interleukin 21 (IL21) 序列: NM_021803.4
稳转基因 2	名称: Homo sapiens TNF superfamily member 9 (TNFSF9) 序列: NM_003811.4
稳转基因 3	名称: Homo sapiens interleukin 15 (IL15) 蛋白序列: NP_000576
荧光蛋白	无
细胞株抗性	BSD R (杀稻瘟菌素抗性) + Puro R (嘌呤霉素抗性) + Hygromycin (潮霉素 B 抗性)
细胞株类型	混合稳转 (✓); 单克隆株 (x)
细胞形态	淋巴母细胞样, 悬浮生长
细胞规格	T12.5 细胞瓶复苏细胞或 1×10^6 细胞冻存细胞
完全培养基	RPMI-1640 + 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; 4 传代, 每 2 ~ 3 天传代或换液一次。



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

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
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 (杀稻瘟菌素: 50 µg/mL ; 嘌呤霉素: 2.5 µg/mL ; 潮霉素: 1 mg/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 (杀稻瘟菌素: 5 µg/mL ; 嘌呤霉素: 0.25 µg/mL; 潮霉素: 0.1 mg/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。



www.vigenbio.com



Technical Support



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 °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，





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

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°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



www.vigenbio.com



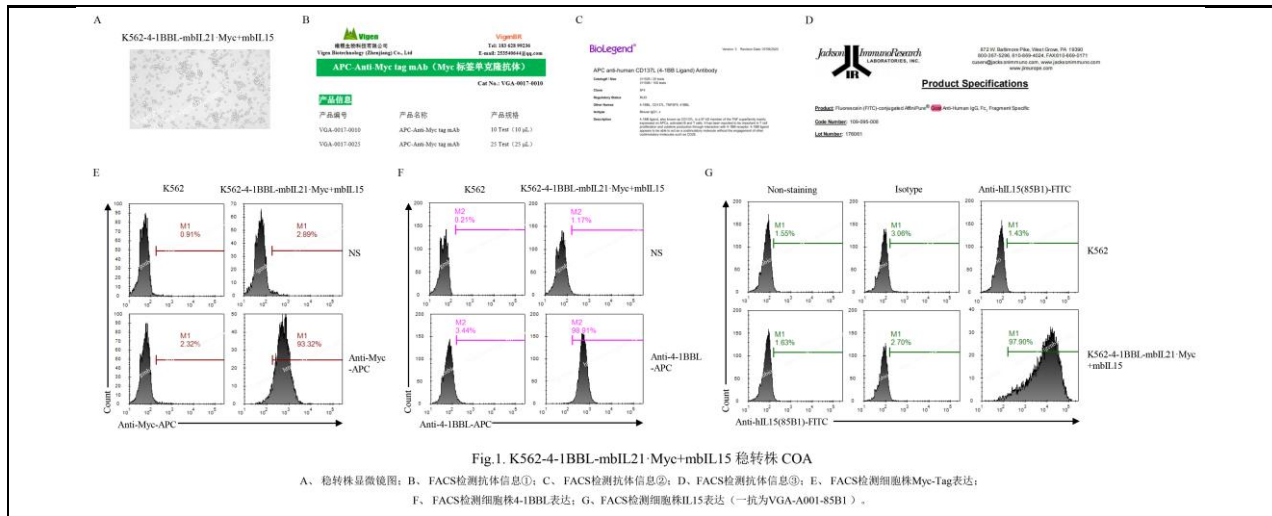
Technical Support



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



www.vigenbio.com



Technical Support