



293T-CD3mix-puro 稳转细胞株介绍

Instruction for 293T-CD3mix-puro Cell Line

【产品基本信息】

| | |
|-------|--|
| 货号: | AKD068A |
| 物种: | Human |
| 细胞描述: | 稳定转染 CD3 δ , γ , ϵ 和 ζ 亚基的 293T 细胞,可以用来检测 TCR 的表达 |
| 表达基因: | CD3 δ , γ , ϵ 和 ζ |
| 生长类型: | 贴壁生长 |
| 冻存液: | DMEM+10%FBS+5%DMSO |
| 保存体系: | 液氮长期保存 |
| 运输方式: | 冻存细胞干冰运输 |

【流式检测数据】

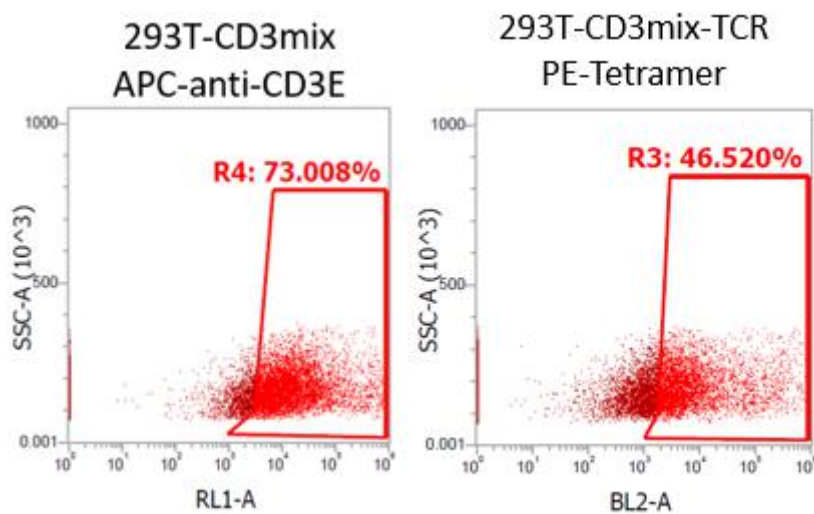


Figure1: 左图: 使用 APC-anti-CD3 抗体 (Biolegend, Cat#317318) 检测 CD3 的表达;
右图: 瞬时转染 TCR 表达质粒, 使用 PE 荧光标记的四聚体 HLA-A02:01HPV16E7Tetramer (MBLCat#TB-0031-1) 检测 TCR 的表达。

【细胞复苏及扩增培养】

1. 细胞复苏
 - 1) 带上防护面罩及防冻手套, 从液氮罐中取出细胞, 并迅速放入 37°C 水浴锅中解冻。



- 2) 在生物安全柜内, 取出 15mL 无菌离心管, 加入 4mL 培养基。
- 3) 使用 75%的医用消毒酒精棉球仔细擦拭上述在 37°C 水浴锅中解冻的细胞冻存管外表面, 进行表面消毒。在生物安全柜内, 拧开细胞冻存管, 然后用 1mL 移液器将管内的细胞悬液吸出, 逐滴加入至上述准备的含有 4mL 培养基的 15mL 离心管中, 使细胞悬液混匀。
- 4) 将含有细胞悬液的离心管置于离心机中, 设置离心参数如下: 200xg、室温 (~25°C) 离心 5min。
- 5) 离心结束后, 将离心管轻轻转移至生物安全柜中, 此时细胞离心管底部可见白色细胞团。使用移液器将培养基上清去除(细胞团比较松散, 注意不要触及底部的细胞团)。
- 6) 使用 1mL 移液器加入 2mL 完全培养基, 轻轻吹打 5 次重悬细胞团, 计数, 按照 6×10^3 cells/cm² 密度接种。
- 7) 将细胞放置培养箱中过夜培养。

2. 细胞传代

- 1) 当 10cm 细胞培养皿内的贴壁细胞融合度大于 90%时, 用移液枪吸除细胞培养基, 加入 4mL 1xPBS 轻轻润洗, 去除 1xPBS, 再加入 2mL 0.025%胰酶, 轻轻润洗, 去除胰酶, 将细胞培养皿转移 37°C 细胞培养箱中。
- 2) 每消化 30-40s 后, 取出细胞培养皿, 镜下观察 293T 细胞形态。当 90%以上细胞形状变圆, 消化成单个细胞, 即可加入 4mL DMEM+10%FBS 完全培养基, 终止消化。
- 3) 取部分细胞, 显微计数, 调整细胞密度为 5.0×10^3 -- 8.0×10^3 cells/cm², 接种到新的培养皿中。