Genomeditech (Shanghai) Co.,Ltd.
Order: 021-68455258/50432826/50432825
Toll-free: 400 627 9288
Email: service@genomeditech.com

产品手册

H_FOLR1 HEK-293 Cell Line

H_FOLR1 HEK-293 细胞系

For research use only!
本品仅供科研使用，严禁用于治疗！

版本号：V2.12.1

Genomeditech

目录

一、 产品基本信息及组分.....3
二、 包装、运输及储存.....3
三、 材料准备.....3
1. 细胞培养、冻存、复苏试剂准备.....3
2. 试剂耗材准备.....3
四、 细胞培养、复苏、冻存.....4
1. 细胞复苏.....4
2. 细胞传代（以 10 cm 皿为例）.....4
3. 细胞冻存.....4
五、 验证结果.....5
1. 流式检测蛋白表达.....5
附录 1 H_FOLR1 氨基酸序列（P15328-1）.....6
使用许可协议：.....7

Genomeditech

一、 产品基本信息及组分

基本信息

产品编号	产品名称	规格
GM-C20033	H_FOLR1 HEK-293 Cell Line	5E6 Cells/mL

组成成分

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C20033	H_FOLR1 HEK-293 Cell Line	5E6 Cells/mL	1 管	-196℃

二、 包装、运输及储存

1. 细胞系产品干冰运输，–196°C 以下（冰箱或液氮的气相）长期储存。
2. 接触产品请带手套。请收到产品立即确认产品是否为冻存状态，–196°C 以下（冰箱或液氮的气相）长期储存。
3. 本产品相关实验，应在二级生物安全实验室或生物安全柜中进行。

三、 材料准备

1. 细胞培养、冻存、复苏试剂准备

细胞复苏培养基：	DMEM+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基：	DMEM+10% FBS+1% P.S+0.75 μg/mL Puromycin
细胞冻存液：	90% FBS+10% DMSO

2. 试剂耗材准备

试剂准备

Reagent	Specification	Manufacturer/Catalogue No.
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Fetal Bovine Serum	500 mL	ExCell/FSP500
DMEM	500 mL	gibco/C11995500BT
Anti-H_FOLR1 hIgG1 Antibody	/	Genomeditech/GM-27354AB

重要仪器

Equipment	Manufacturer/Catalogue No.
细胞计数仪	ThermoFisher Scientific/Countess 3
流式细胞仪	常州必达科生物科技有限公司/BeamCyte-1026

四、 细胞培养、复苏、冻存

1. 细胞复苏

a) 37℃水浴锅预热复苏培养基，加入预热后的复苏培养基 5 mL 至 15 mL 离心管。

b) 从液氮中取出冻存细胞并迅速放入 37℃恒温水浴锅，将细胞液面浸至水面以下轻轻摇动解冻，直到刚刚融化（通常 2-3 分钟）。

c) 用 70%乙醇擦拭冻存管外部以降低污染的几率。在生物安全柜或超净台中将冻存管中的细胞悬液转移到步骤 a）的离心管中，轻轻混匀，176 × g，离心 3 min，使细胞沉淀，弃上清。

d) 使用 1 mL 复苏培养基重悬，可取出部分使用台盼蓝染色计数活细胞，活细胞≥ 3×10^6 cells/mL。

e) 通过补加复苏培养基的形式，调整活细胞密度到 2-3 × 10^5 cells/mL，根据细胞悬液总体积，将细胞接种到合适的培养皿中。

2. 细胞传代（以 10 cm 皿为例）

注：细胞复苏后的 1 至 2 代，使用复苏培养基，待细胞状态稳定后，再更换为含有抗生素的生长培养基。

a) 细胞为上皮细胞，贴壁生长。培养箱中孵育 16-24 h 后，镜下观察细胞贴壁情况，当细胞密度大于 80%，即可进行细胞传代。推荐细胞传代比例为 1:3-1:4，2-3 天传代。

b) 将皿或培养瓶中的培养液弃去，10 cm 皿加 2 mL PBS 润洗 1 次。

c) 弃 PBS，加 1 mL 0.25% Trypsin-EDTA 消化液，37°C 消化 30-60 s，显微镜下观察。

d) 待细胞变圆，细胞间隙明显，部分细胞刚开始脱离瓶壁时，加 2 mL 左右生长培养基混匀终止消化，将细胞小心吹打下来，176 × g 室温离心 3 min。

e) 弃上清，细胞沉淀用生长培养基重悬，根据传代前细胞密度分盘（根据培养皿面积和细胞密度计算，传代后细胞密度为 30-40%）。

注意事项：

细胞刚复苏，死细胞较多，属于正常现象，经调整会有明显好转，状态稳定后，传代后死细胞会变少，细胞生长速度趋于稳定。

3. 细胞冻存

a) 使用 176 × g，3 min 离心收集细胞。

b) 使用预冷细胞冻存液（90% FBS + 10% DMSO）重悬细胞，细胞密度调整为 5 × 10^6 cells/mL，每管 1 mL 分装到细胞冻存管中。

c) 拧紧盖子，适当标记后，将冻存管置于梯度降温盒中，-80℃下保存至少 1 天，尽快转移至液氮中。

五、 验证结果

1. 流式检测蛋白表达

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐H_FOLR1 HEK-293 Cell Line细胞量为2 × 10^5 cells/管。操作步骤如下：

a) 实验前，需等待细胞生长速率稳定，约需要7-10 d。

b) 实验当天，消化H_FOLR1 HEK-293 Cell Line，取100 μL细胞悬液（细胞计数后用PBS调整浓度为2 × 10^6 cells/mL），加入适量的表面抗体（Anti-H_FOLR1 hIgG1 Antibody），4℃避光孵育1 h。

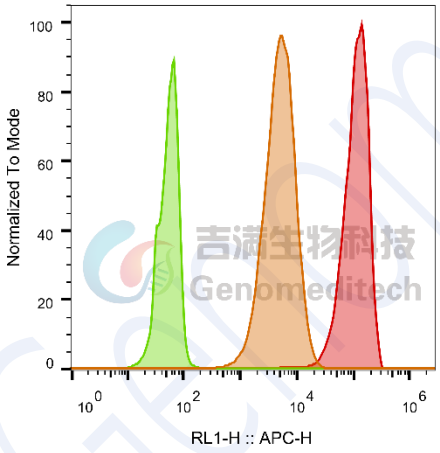
c) 加入1-2 mL PBS冲洗，重复此步骤。

d) 加入荧光标记的二抗，4℃避光孵育30 min。

e) 1000 rpm离心5 min，去除上清，用300 μL PBS重悬。

f) 立即上机检测。

g) 验证结果。



	SampleID	Geometric Mean : RL1-H
	HEK-293 anti-FOLR1+APC-2nd Ab	4856
	HEK-293 H_FOLR1 H_IgG+APC-2nd Ab	54.3
	HEK-293 H_FOLR1 anti-H_FOLR1+APC-2nd Ab	103846

Fig.流式验证结果

Genomeditech (Shanghai) Co.,Ltd.
Order: 021-68455258/50432826/50432825
Toll-free: 400 627 9288
Email: service@genomeditech.com

附录 1　H_FOLR1 氨基酸序列（P15328-1）

MAQRMTTQLLLLLVWVAVVGEAQTRIAWARTELLNVCMNAKHHKEKPGPEDKLHEQC

RPWRKNACCSTNTSQEAHKDVSYLYRFNWNHCGEMAPACKRHFIQDTCLYECSPNLGP

WIQQVDQSWRKERVLNVPLCKEDCEQWWEDCRTSYTCKSNWHKGWNWTSGFNKCAV

GAACQPFHFYFPTPTVLCNEIWTHSYKVSNYSRGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEVARFYA

AAMSGAGPWAAWPFLLSLALMLLWLLS

Genomeditech

Genomeditech (Shanghai) Co.,Ltd.
Order: 021-68455258/50432826/50432825
Toll-free: 400 627 9288
Email: service@genomeditech.com

使用许可协议：

凡购买及使用本细胞系产品，即表明使用者自愿接受并遵守以下相关使用政策：

- 本细胞系产品限于科研用途，不得被利用于任何商业用途。
- 本产品严禁用于人类或动物疾病诊治，也不得直接用于人体相关实验。
- 用户及为其利益服务的第三方承包商仅可在约定科研范围内使用本材料及其子代，不得进行修饰，亦不得向任何其他实体（包括关联机构）分发、销售、转让或以其他方式提供吉满生物材料。
- 如需将本产品用于本声明范围以外的用途，须事先获得吉满生物科技（上海）有限公司的书面许可，详情请联系吉满生物科技（上海）有限公司。

Genomeditech