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

产品手册

Membrane Bound H_VEGF165 CHO-K1 Cell Line

Membrane Bound H_VEGF165 CHO-K1 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

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、 细胞复苏、传代、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（示例） 5
1. 流式检测蛋白表达 5
附录 1 H_VEGF165（VEGFA）氨基酸序列（P15692-4） 6
附录 2 ADCC 验证结果 6
相关产品 7
使用许可协议： 7

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-C40448	Membrane Bound H_VEGF165 CHO-K1 Cell Line	5E6 Cells/mL

组成成分

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C40448	Membrane Bound H_VEGF165 CHO-K1 Cell Line	5E6 Cells/mL	1 管	-196°C

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：	F12K+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基：	F12K+10% FBS+1% P.S+4 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.
F12K	500 mL	BOSTER/PYG0036
Fetal Bovine Serum	500 mL	ExCell/FSP500
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
Anti-VEGF hIgG1 Reference Antibody (Bevbio)	/	Genomeditech/GM-87758MAB

重要仪器

Equipment	Manufacturer/Catalogue No.
细胞计数仪	ThermoFisher Scientific/Countess 3
流式细胞仪	贝克曼库尔特国际贸易（上海）有限公司/CytoFLEX

四、 细胞复苏、传代、冻存

1. 细胞复苏

a) 37°C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°C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 5 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。

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°C下保存至少 1 天，尽快转移至液氮中。

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) 此细胞呈梭状，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 60%，即可进行细胞传代。推荐细胞传代比例为 1:4-1:5，2-3 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 2-3 min，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 20-30%）。

注意事项：

a) 细胞状态稳定后，传代后死细胞会变少，细胞生长速度趋于稳定，细胞形态均匀，胞体健壮。

b) FBS 血清需 56°C 加热 30 分钟，可灭活补体和部分病毒，但不显著影响大多数生长因子和细胞因子活性。

五、 验证结果（示例）

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Membrane Bound H_VEGF165 CHO-K1 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3-5 d。

b) 实验当天，消化Membrane Bound H_VEGF165 CHO-K1 Cell Line，取100 μL细胞悬液（细胞计数后用1% BSA/PBS调整浓度为2×10^6 cells/mL），加入适量的表面抗体（Anti-VEGF hIgG1 Reference Antibody (Bevbio)），4℃避光孵育30 min。

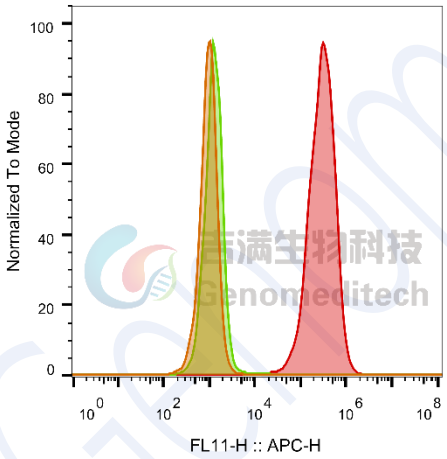
c) 加入1-2 mL 1% BSA/PBS冲洗，400 g 离心5 min，弃上清。重复此步骤2次。

d) 加入荧光标记的二抗，4℃避光孵育30 min。

e) 离心弃上清，细胞用1% BSA/PBS重悬（注意避光保存）。

f) 立即上机检测。

g) 验证结果。



	SampleID	Geometric Mean : FL11-H
	CHO-K1 anti-VEGF+APC-2nd Ab	973
	CHO-K1 H_VEGF165 H_IgG+APC-2nd Ab	1284
	CHO-K1 H_VEGF165 anti-VEGF+APC-2nd Ab	282424

Fig 1.流式验证结果

附录 1　H_VEGF165（VEGFA）氨基酸序列（P15692-4）

MNFLLSWVHWSLALLLYLHHAKWSQAAPMAEGGGQNHHEVVKFMDVYQRSYCHPIET

LVDIFQEYPDEIEYIFKPSCVPLMRCGGCCNDEGLECVPTEESNITMQIMRIKPHQGQHIGE

MSFLQHNKCECRPKKDRARQENPCGPCSERRKHLFVQDPQTCKCSCKNTDSRCKARQLE

LNERTCRCDKPRR

附录 2 ADCC 验证结果

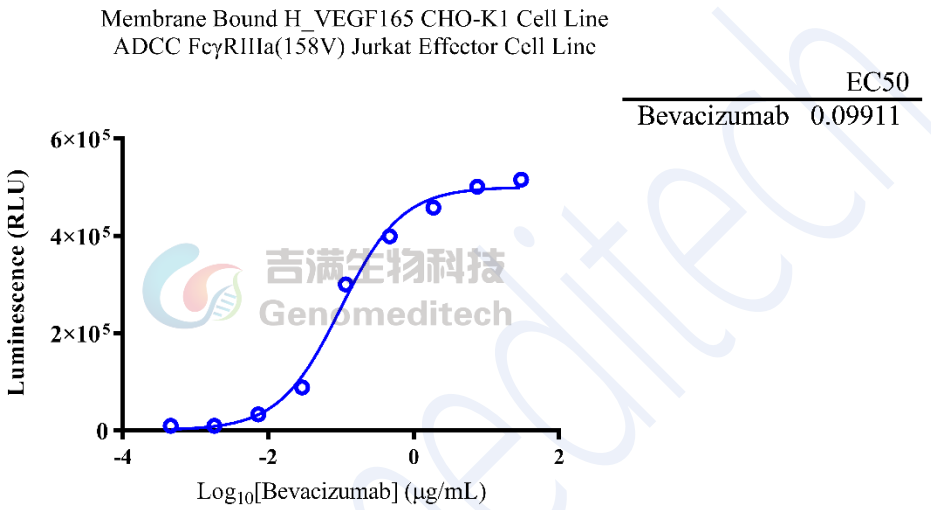


Fig 2. ADCC 验证结果

相关产品

VEGF	
H_VEGF Reporter 293 Cell Line	H_VEGF Reporter 293 DDX35TM Cell Line
H_VEGFR1 CHO-K1 Cell Line	H_VEGFR1 HEK-293 Cell Line
Anti-mouse VEGFR-2 mIgG2a Antibody(DC101)	Anti-mouse VEGFR-2 RIgG1 Antibody(DC101)
Anti-VEGF hIgG1 Antibody(Bevacizumab)	Anti-VEGF hIgG1 Reference Antibody (Bevbio)
Biotinylated Human VEGFR2 Protein; His-Avi Tag	Human VEGF110 Protein; His Tag
Human VEGF121 Protein; His Tag	Human VEGF165 Protein; His Tag
Human VEGFR1 Protein; His Tag	Human VEGFR2 Protein; hFc Tag
Human VEGFR2 Protein; His Tag	Mouse VEGFR2 Protein; His Tag

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。