

产品手册

H_NLRP3 KO THP1 Cell Line

H_NLRP3 KO THP1 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	4
3.	细胞冻存	4
附录 1	WB 验证结果	5
附录 2	Sanger 测序验证结果	5
使用许可协议:	6

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-C39958	H_NLRP3 KO THP1 Cell Line	5E6 Cells/mL

组成成分

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C39958	H_NLRP3 KO THP1 Cell Line	5E6 Cells/mL	1 管	-196°C

二、 包装、运输及储存

- 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。
- 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。
- 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:	RPMI 1640(ATCC)+10% FBS+1% P.S
细胞生长培养基:	RPMI 1640(ATCC)+10% FBS+1% P.S+0.05 mM β -Me+2 μ g/mL Blasticidin
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.
RPMI 1640	500 mL	ATCC/30-2001
Fetal Bovine Serum	500 mL	ExCell/FSP500
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
β -Me	25 mg	gibco/21985-023
Blasticidin	96-well	Genomeditech/GM-040404-1
NLRP3 (D4D8T) Rabbit Monoclonal Antibody	/	Cell Signaling/15101

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

注意事项: 细胞复苏过程中不要频繁取出观察, 复苏后 3 代内使用 20%FBS, 之后降为 10%FBS。该细胞存在密度依赖, 按照 $3 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ cells/mL 的密度传至 T25 瓶中, 培养体系约为 3-8 mL。

- 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, $176 \times g$, 离心 5 min, 使细胞沉淀, 弃上清。
- d) 使用 3 mL 复苏培养基重悬, T25 瓶竖直培养, 隔 2-3 天直接补加 3-5mL 复苏培养基, 瓶体横向放置, 补液后预计 3-4 天培养基颜色微微变黄, 此时观察细胞, 颗粒变圆, 胞体饱满, 开始计数传代, 整个周期预计 2 周。

3. 细胞冻存

- a) 使用 $176 \times g$, 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

注: 细胞复苏后的 3 代内, 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) 此细胞为单核细胞, 悬浮生长。
- b) 当细胞浓度达到 8×10^5 cells/mL 时传代培养, 不要让其浓度超过 1×10^6 cells/mL, 推荐使用 T25 瓶进行传代培养。可通过计数控制细胞传代密度, 1 传 2-1 传 3, 2-3 天传代。
- c) 该细胞为悬浮细胞, 传代时推荐使用【半换液法】对细胞状态较为有利。传代时可以直接向培养瓶中添加生长培养基, 然后将细胞吹打均匀后移入新的 T25 培养瓶中继续培养。

注意事项:

- a) 该细胞对细胞密度较为敏感, 培养、传代时请注意保持细胞密度在合适的范围。等到细胞倍增率稳定后再用于检测或冻存, 一般在 7-10 天左右。
- b) 该细胞的培养基中需添加 β -巯基乙醇, 若不添加, 可能会对细胞状态造成影响。
- c) 细胞较难复苏, 复苏后活率约 60%-80%, 复苏后需要培养 5-7 天才能恢复正常生长。
- d) FBS 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。

附录 1 WB 验证结果

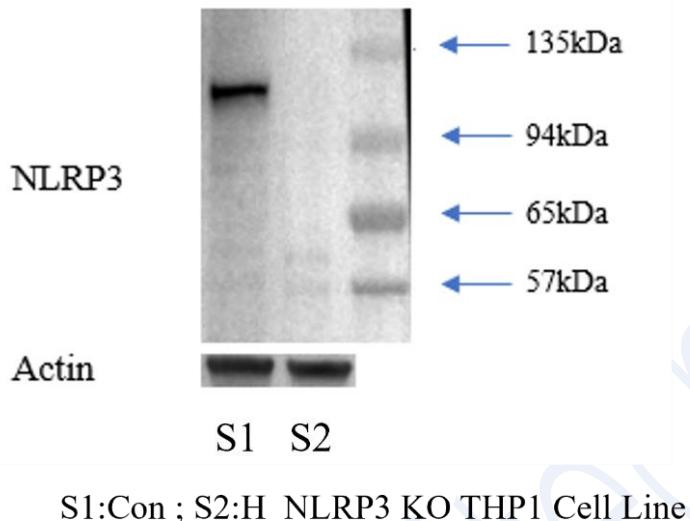


Fig 1. Western Blot 检测 THP1 细胞中目的基因表达量

附录 2 Sanger 测序验证结果

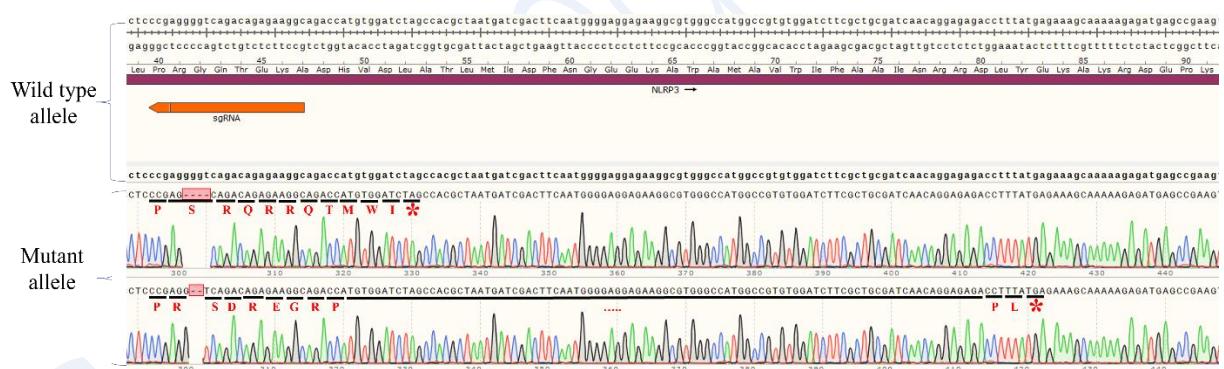


Fig 2. Sanger 测序验证结果

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。