产品手册

Rhesus\_CDH17 HEK-293 Cell Line

Rhesus\_CDH17 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：V2.12.2

**目录**

[一、 产品基本信息及组分 3](#_Toc209103327)

[二、 包装、运输及储存 3](#_Toc209103328)

[三、 材料准备 3](#_Toc209103329)

[1. 细胞培养、冻存、复苏试剂准备 3](#_Toc209103330)

[2. 试剂耗材准备 3](#_Toc209103331)

[四、 细胞复苏、传代、冻存 4](#_Toc209103332)

[1. 细胞复苏 4](#_Toc209103333)

[2. 细胞传代（以10 cm皿为例） 4](#_Toc209103334)

[3. 细胞冻存 4](#_Toc209103335)

[五、 验证结果（示例） 5](#_Toc209103336)

[1. 流式检测蛋白表达 5](#_Toc209103337)

[附录1：稳定性验证 6](#_Toc209103338)

[附录2 Rhesus\_CDH17氨基酸序列（A0A1D5R2B4; AA Gln 23 - Met 787） 6](#_Toc209103339)

[相关产品 7](#_Toc209103340)

[使用许可协议： 8](#_Toc209103341)

# 产品基本信息及组分

**基本信息**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
| GM-C28746 | Rhesus\_CDH17 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-C28746 | Rhesus\_CDH17 HEK-293 Cell Line | 5E6 Cells/mL | 1管 | -196℃ |

# 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。

# 材料准备

## 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 |

## 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-CDH17 hIgG1 Antibody | / | Genomeditech/GM-52672AB |

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 |

# 细胞复苏、传代、冻存

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 细胞复苏**注：为确保最高存活率，应在收到冻存细胞后立即解冻并复苏培养。如果在收到细胞后需要继续储存，将其置于液氮罐中，严禁储存在-70°C，因为在-70°C下储存会导致活性丧失。**1. 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。
2. 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）。
3. 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。
4. 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 × 106 cells/mL。
5. 通过补加复苏培养基的形式，调整活细胞密度到2-3 × 105 cells/mL，根据细胞悬液总体积，将细胞接种到合适的培养皿中。
 |  | 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。**1. 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，当细胞密度达到80%，需要进行细胞传代。推荐细胞传代比例为1:3-1:4，2-3天传代。注意保持密度不超过80%，否则可能会因细胞受到挤压而导致活性减弱。
2. 将皿或培养瓶中的培养液弃去，10 cm皿加2 mL PBS润洗1次。
3. 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。
4. 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。
 |
| 细胞冻存1. 使用176 × g，3 min离心收集细胞。
2. 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 × 106 cells/mL，每管1 mL分装到细胞冻存管中。
3. 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。
 | **注意事项：**1. **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。**
2. **注意保持密度不超过80%，否则可能会因细胞受到挤压而导致活性减弱。**
 |

# 验证结果（示例）

## 流式检测蛋白表达

操作步骤可调整优化，对于本实验，推荐Rhesus\_CDH17 HEK-293 Cell Line细胞量为2 × 105 cells/管。操作步骤如下：

1. 实验前，需等待细胞生长速率稳定，约需要3-5 d。
2. 实验当天，消化Rhesus\_CDH17 HEK-293 cell line，取100 μL细胞悬液（细胞计数后用PBS调整浓度为2 × 106 cells/mL），加入适量的表面抗体（Anti-CDH17 hIgG1 Antibody），4℃避光孵育1 h。
3. 加入1-2 mL PBS冲洗，重复此步骤。
4. 加入荧光标记的二抗，4℃避光孵育30 min。
5. 1000 rpm离心5 min，去除上清，用300 μL PBS重悬。
6. 立即上机检测。
7. 验证结果。



Fig.流式验证结果

# 附录1：稳定性验证



Fig.稳定性验证结果

# 附录2 Rhesus\_CDH17氨基酸序列（A0A1D5R2B4; AA Gln 23 - Met 787）

QEGKFSGPLKPMTFSIYEGQEPSQIIFQFKANPPAVTFELTGETDNIFKIEREGLLYYTKALDRETRSTHNLQVAALDANGAIVEGPVPITIEVKDVNDNRPTFLQSKYEGSVRQNSRPGKPFLYVNATDLDDPATPNGQLSYQIVIQLPMINNVMYFQINNKTGGISLTREGSQELNPAKNPSYNLVISVKDMGGQSENSFSDTTSVDIIVTENIWKAPEPVEMVENSTDPHPIKITQVRWNDPGAQYSLVDKEKLPRFPFSIDQEGDIYVTQPLDREEKDAYVFYAVAKDEYGKPLSYPLEIHVKVQDINDNPPTCPSPVTVFEVQENERLGNSIGALTAHDSDEENTANSLLNYRIVEQTPKLPMDGLFLIQTYAGMLQLAKQSLKKQDTPQYNLTIEVSDKDFKTLCFVQINVIDINDQIPIFEKSDYGNLTLAEDTNVGSTILTIQATDADEPFTGSSKILYHVIKGDSEGRLGVDTDPHTNTGYVIIKKPLDFETAAISNIVFKAENPEPLVFGVTYNASSFAKFTLFVTDVNEAPEFSQYVFQAKVSEDVAIGTKVGNVTAKDPEGLDISYSLRGDTRGWLKIDHVTGEIFSVAPLDREAGSPYRVQVVATEVGGSSLSSVSQFHLILTDVNDNPPRLAKDYMDLYFCHPLSAPGSLIFEATDDDQHLFRGPHFTFSIASESLQNDWQVSKINGTHARLSTRHTDFEEKEYVVSIRINDGGRPPLESTVSLTVTFCSCGEDGCFRPAGHQPGIPTVGM

# 相关产品

|  |
| --- |
| CDH3 |
| [Cynomolgus\_CDH3 CHO-K1 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/Cynomolgus_CDH3-CHO-K1-Cell-Line) | [H\_CDH3 CHO-K1 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH3-CHO-K1-Cell-Line) |
| [H\_CDH3 HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH3-HEK-293-Cell-Line) | [Anti-H\_CDH3 hIgG1 Antibody](https://www.genomeditech.com/antibody/Anti-H_CDH3-hIgG1-Antibody) |
| CDH6 |
| [Cynomolgus\_CDH6 CHO-K1 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/Cynomolgus_CDH6-CHO-K1-Cell-Line) | [H\_CDH6 CHO-K1 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH6-CHO-K1-Cell-Line) |
| [H\_CDH6 HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH6-HEK-293-Cell-Line) | [Anti-H\_CDH6 hIgG1 Antibody(H01L02)](https://www.genomeditech.com/antibody/Anti-H_CDH6-hIgG1-Antibody-H01L02) |
| [Anti-CDH6 hIgG1 Reference Antibody (Ralubio)](https://www.genomeditech.com/antibody/Anti-CDH6-hIgG1-Reference-Antibody-Ralubio) |  |
| CDH17 |
| [Cynomolgus\_CDH17 HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/Cynomolgus_CDH17-HEK-293-Cell-Line) | [Cynomolgus\_CDH17(XP\_005563762.1) HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/Cynomolgus_CDH17-XP_005563762.1-HEK-293-Cell-Line) |
| [H\_CDH17 CHO-K1 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-CHO-K1-Cell-Line) | [H\_CDH17 CT26 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-CT26-Cell-Line) |
| [H\_CDH17 HCT116 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-HCT116-Cell-Line) | [H\_CDH17 HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-HEK-293-Cell-Line) |
| [H\_CDH17 LLC1 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-LLC1-Cell-Line) | [H\_CDH17 MC38 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-MC38-Cell-Line) |
| [H\_CDH17 RKO Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-RKO-Cell-Line) | [H\_CDH17 SW480 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-SW480-Cell-Line) |
| [H\_CDH17(ΔEC1,Flag-EC2-7) HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-%CE%94EC1%2CFlag-EC2-7-HEK-293-Cell-Line) | [H\_CDH17(ΔEC1-2,Flag-EC3-7) HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-%CE%94EC1-2%2CFlag-EC3-7-HEK-293-Cell-Line) |
| [H\_CDH17(ΔEC1-3,Flag-EC4-7) HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-%CE%94EC1-3%2CFlag-EC4-7-HEK-293-Cell-Line) | [H\_CDH17(ΔEC1-4,Flag-EC5-7) HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-%CE%94EC1-4%2CFlag-EC5-7-HEK-293-Cell-Line) |
| [H\_CDH17(ΔEC1-5,Flag-EC6-7) HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-%CE%94EC1-5%2CFlag-EC6-7-HEK-293-Cell-Line) | [H\_CDH17(ΔEC1-6,Flag-EC7) HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/H_CDH17-%CE%94EC1-6%2CFlag-EC7-HEK-293-Cell-Line) |
| [Mouse\_CDH17 HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/Mouse_CDH17-HEK-293-Cell-Line) | [Rat\_CDH17 HEK-293 Cell Line](https://www.genomeditech.com/cell-line/Rat_CDH17-HEK-293-Cell-Line) |
| [Anti-CDH17 hIgG1 Antibody(BI-905711)](https://www.genomeditech.com/antibody/Anti-CDH17-hIgG1-Antibody-BI-905711) | [Anti-CDH17 hIgG1 Antibody(VHHl-28BB)](https://www.genomeditech.com/antibody/Anti-CDH17-hIgG1-Antibody-VHHl-28BB) |
| [Anti-CDH17 hIgG1 Reference Antibody(BI-905711)](https://www.genomeditech.com/antibody/Anti-CDH17-hIgG1-Reference-Antibody-BI-905711) | [Biotinylated Human CDH17 Protein; His-Avi Tag](https://www.genomeditech.com/protein/Biotinylated-Human-CDH17-Protein;-His-Avi-Tag) |
| [Cynomolgus CDH17 Protein; His Tag](https://www.genomeditech.com/protein/Cynomolgus-CDH17-Protein;-His-Tag) | [Human CDH17 Protein; His Tag](https://www.genomeditech.com/protein/Human-CDH17-Protein;-His-Tag) |
| [Mouse CDH17 Protein; His Tag](https://www.genomeditech.com/protein/Mouse-CDH17-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。