

Luciferase 稳定表达 A549 细胞株说明书

基本信息:

产品名称: A549-Luciferase-Puro 细胞株

产品货号: FBC2011

保存条件: 液氮 (冻存细胞)

37°C 5%CO₂ 细胞培养箱 (瓶装细胞)

包装规格: 冻存管 1ml (5X10⁶细胞)

T25 瓶 1 瓶 (5X10⁶细胞)

产品简介:

A549-Luciferase-Puro 细胞稳定表达萤火虫荧光素酶。该细胞株可用作萤火虫荧光素酶活性检测中的阳性对照,也可用于活体动物成像实验。

构建方法:

通过带有 Luciferase 的慢病毒颗粒转导 A549 细胞后,经过多轮筛选而获得稳定表达 Luciferase 的细胞株。

培养信息:

| | |
|--------|-------------------------------------|
| 培养基 | DMEM+10%胎牛血清 |
| 培养条件 | 含 5% CO ₂ 细胞培养箱, 37°C 培养 |
| 消化条件 | 0.25% (w/v) Trypsin-0.53mM EDTA |
| 培养缓冲液 | 无菌 PBS 液 |
| 建议传代比例 | 1 : 3~1: 5 |

操作指南:

1. 冻存细胞:

- 1) 从液氮容器中取出冻存管, 直接浸入 37°C 温水中并不时摇动令其尽快融化;
- 2) 从 37°C 水浴中取出冻存管, 离心, 1000rpm, 5min;
- 3) 冻存管外壁消毒后开盖, 弃去上清液, 用 1ml 完全培养基重悬细胞;
- 4) 将细胞接种到培养瓶/皿中, 37°C 5%CO₂ 细胞培养箱中培养;
- 5) 次日更换一次培养液, 继续培养。

2. 瓶装细胞:

- 1) 收到细胞后, 首先观察细胞培养瓶是否完好, 如有破裂、培养基渗漏、培养基浑浊等现象, 请拍照并及时联系我们;

- 2) 对细胞培养瓶进行表面消毒。可在显微镜下初步镜检观察细胞状态。运输过程可能导致细胞脱落, 属于正常现象, 此时请将未开封细胞放入细胞培养箱中静置 2 小时左右, 等待细胞重新贴壁, 状态稳定;

- 3) 静置后, 再次镜检确认细胞贴壁情况。待大部分细胞贴壁后, 移除部分培养基, 保留 5ml 培养基, 拍照记录细胞状态, 放入 37°C 5%CO₂ 细胞培养箱继续培养;

- 4) 待细胞密度达到 80% 以上时传代操作。

3. 细胞传代:

- 1) 传代前将细胞培养液、PBS 和胰蛋白酶温浴至 37°C;
- 2) 吸去细胞培养液;
- 3) 用 PBS 漂洗两次;
- 4) 加入适量胰蛋白酶, 轻轻晃动细胞瓶, 使胰蛋白酶均匀覆盖细胞, 吸去胰蛋白酶, 将培养瓶放置在细胞培养箱中, 37°C 消化 1 - 2min。加入细胞培养基, 用吸管轻柔吹打分散细胞;
- 5) 按 1:3 到 1:5 接种细胞。

4. 细胞冻存:

- 1) 配制含 10%DMSO 或甘油、10~20%胎牛血清的细胞冻存液;
- 2) 冻存的细胞应为状态好, 生长旺盛的细胞;
- 3) 按细胞传代方法消化细胞, 用适量细胞培养液终止消化, 重悬细胞;
- 4) 室温 200g 离心 10 分钟收集细胞, 用冻存液重悬细胞, 并调节浓度至大约 1×10^6 个细胞/ml, 分装到细胞冻存管;
- 5) 冻存: 标准的冻存程序为降温速率 $-1 \sim -2^\circ\text{C}/\text{min}$; 当温度达 -25°C 以下时, 可增至 $-5^\circ\text{C} \sim -10^\circ\text{C}/\text{min}$; 到 -100°C 时, 则可迅速浸入液氮中。可将细胞冻存管放入程序降温盒, -80°C 过夜, 再移入液氮容器内; 或者 4°C 放置 30min~2h, -20°C 放置 30min~2h, -80°C 过夜, 再移入液氮容器内。