

## Luciferase 稳定表达 3T3 细胞株说明书

### 基本信息

产品名称: 3T3-Luciferase-Puro 细胞株

产品货号: FBC2016

保存条件: 液氮 (冻存细胞)

37°C 5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱 (瓶装细胞)

包装规格: 冻存管 1ml (5X10<sup>6</sup>细胞)

T25 瓶 1 瓶 (5X10<sup>6</sup>细胞)

### 产品简介

3T3-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 3T3 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 <sub>2</sub> 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%CO<sub>2</sub> 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%CO<sub>2</sub> 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 和胰蛋白酶温浴到 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  $1 \times 10^6$  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  $-25^\circ\text{C}$  以下时, 可增至  $-5^\circ\text{C} \sim -10^\circ\text{C}/\text{min}$ ; 到  $-100^\circ\text{C}$  时, 则可迅速浸入液氮中。可将细胞冻存管放入程序降温盒,  $-80^\circ\text{C}$  过夜, 再移入液氮容器内; 或者  $4^\circ\text{C}$  放置 30min~2h,  $-20^\circ\text{C}$  放置 30min~2h,  $-80^\circ\text{C}$  过夜, 再移入液氮容器内。