

## A549-LUC-BSD/人非小细胞肺癌细胞 (荧光素酶标记)

一、基本信息	
细胞名称	A549-LUC-BSD/人非小细胞肺癌细胞
细胞品牌	江蓝纯生物
细胞规格	1x10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管
种属来源	人
组织来源	肺
细胞形态	上皮细胞样
细胞简介	<p>Luciferase A549 细胞稳定表达萤火虫荧光素酶。该细胞株性状稳定, 培养时不需要添加抗生素维持。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。该细胞通过慢病毒转染的方式携带 Luc 基因。该细胞系由 D.J.Griad 通过肺癌组织移植培养建系, 患者为 58 岁白人男性。</p> <p>A549 能通过胞苷二磷酸胆碱途径合成含有高含量不饱和脂肪酸的卵磷脂。</p>
puro 药筛浓度	A549-LUC 细胞 bsd (Blasticidin) 药筛浓度为 4.0ug/ml, 培养过程中可不用再添加 bsd, 如若担心抗性随着传代时间降低, 可定期用 2.0ug/ml 浓度 bsd 维持
细胞代数	10 代以内
生物安全等级	1

生长特性	贴壁生长
生长条件	气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37°C
保藏机构	ATCC; CCL-185 ATCC; CRM-CCL-185 ATCC; CRL-7909 BCRC; 60074 BCRJ; 0033 DSMZ; ACC-107 ECACC; 86012804
培养基	90% DMEM+10% FBS+PS
冻存条件	无血清冻存液, 液氮储存
细胞货期	现货, 1 周左右
供应范围	仅用于科研使用, 不得用于其它用途

## 二、细胞培养操作

### T 25 瓶

收货处理	观察好细胞状态后, 75%酒精消毒瓶壁, 将 T25 瓶置于 37 度培养箱放置 2-4h, 以便稳定细胞状态
传代密度	细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养
传代比例	首次传代建议 1: 2 传代, 1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿
传代方法	<p><b>a</b>、弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。</p> <p><b>b</b>、加 1 mL 消化液 (0.25%Trypsin-0.02% EDTA) 于培养瓶中, 使消化液浸润所有细胞, 将培养瓶置于 37°C培养箱中消化 1-3min (视细胞情况而定), 然后在显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞大部分变圆并脱落, 迅速拿回操作台, 轻敲几下培养瓶后加 2-3ml 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中, 1000 rpm 离心 5 min, 弃去上清液, 补加 1-2 mL 培养液后吹匀。</p> <p><b>c</b>、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中, 置于培养箱中培养。</p>

注意事项	<p>1. 运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。</p> <p>2. 因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。</p>
<b>冻存管</b>	
收货处理	到细胞后，需立即转入液氮冻存或直接复苏
传代密度	第二天换液并检查细胞密度
传代比例	一管细胞建议接种到 10cm 培养皿或者 T25 瓶
传代方法	将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 6 cm 皿中，加入约 4 mL 培养基，培养过夜）第二天换液并检查细胞密度。
注意事项	<p>1. 收货时若发现干冰化完，检查冻存管是否融化，若已融化需直接离心细胞接种观察，若未融化可以将细胞按正常步骤保存。</p> <p>2. 为保证细胞的高存活率，收到产品后，请立即解冻复苏细胞。</p>
<b>三、细胞冻存操作</b>	
冻存液配方	无血清冻存液，液氮储存
细胞密度	待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例
冻存方法	<p>a、收集细胞及细胞培养液，装入无菌离心管中，1000 rpm 条件下离心 4 min，弃去上清液，用 PBS 清洗一遍，弃尽 PBS，进行细胞计数。</p> <p>b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 <math>5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}</math>，轻轻混匀，每支冻存管</p>

	<p>冻存 1mL 细胞悬液, 注意冻存管做好标识。</p> <p>c、将冻存管放入-80℃冰箱, 24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。</p>
注意事项	冻存细胞转入液氮后及时复苏一管检查细胞冻存活性, 若有异常, 及时调整实验方案
<b>四、售后服务</b>	
<b>细胞予重发</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 细胞运输中遭遇的各种问题, 细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等, 重发。</li> <li>2. 收到细胞未开封, 如出现污染状况, 重发。</li> <li>3. 收到细胞 3 天内, 发现污染问题, 经核实后, 重发。</li> <li>4. 常温发货的细胞静置 2 小时后, 干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后, 绝大多数细胞未存活, 经核实后, 重发。</li> <li>5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后, 出现污染, 经核实后, 重发。</li> <li>6. 细胞活性问题, 请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果, 用台盼蓝染色法鉴定细胞活力, 经核实后, 重发。</li> </ol>
<b>细胞不重发</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 客户操作造成细胞污染, 不重发。</li> <li>2. 客户严重操作失误致细胞状态不好, 不重发。</li> <li>3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好, 不重发。</li> <li>4. 细胞状态不好, 未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片, 不重发。</li> <li>5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的, 不重发。</li> <li>6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的, 不重发。</li> </ol>

## 附件: A549-LUC-BSD 活性检测报告

### 检测细胞

A549-LUC-BSD

### 实验仪器及耗材

名称	来源
高速冷冻离心机	湘仪
IVIS Lumina II	精诺真
移液器	Thermo
200 $\mu$ l 吸头	NEST
1.5 ml 离心管	NEST

### 实验步骤

1. 消化下细胞并计数, 将之重悬为  $10^5$ /mL, 取 100  $\mu$ L 加入 96 孔化学发光板, 并梯度稀释, 使得每孔细胞数量为 10000 个, 5000 个, 2500 个。
2. 每孔加入 100  $\mu$ L 300 $\mu$ g/mL Beetle Luciferin。
3. 2 min 后将板放入 IVIS Lumina II 进行成像。

### 检测结果

10000

5000

2500

