



维根生物科技有限公司  
Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenCell®

Tel: 183 628 99236  
E-mail: 253540644@qq.com

## Hepa 1-6-ffluc-GFP+Cd19(m) 稳转株说明书

### 一、基本信息

|        |                                                                                                                                                  |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 英文名称   | Hepa 1-6-ffluc-GFP+Cd19(m) polyclonal stable cell line                                                                                           |
| 中文名称   | ffluc 和 Cd19(m) 过表达 Hepa 1-6 稳转株                                                                                                                 |
| 产品货号   | VGC-0065-027PP                                                                                                                                   |
| 稳转基因 1 | 名称: 萤火虫荧光素酶, Firefly luciferase, ffluc;<br>序列: QBQ18417.1                                                                                        |
| 稳转基因 2 | 名称: Mus musculus CD19 antigen (Cd19)<br>序列: NM_009844.3                                                                                          |
| 荧光蛋白   | GFP                                                                                                                                              |
| 细胞株抗性  | BSD R (杀稻瘟菌素抗性) + Puro R (嘌呤霉素抗性)                                                                                                                |
| 细胞株类型  | 混合稳转 (✓); 单克隆株 (x)                                                                                                                               |
| 细胞形态   | 上皮细胞样, 贴壁生长                                                                                                                                      |
| 细胞规格   | T25 细胞瓶复苏细胞或 $1 \times 10^6$ 细胞冻存细胞                                                                                                              |
| 完全培养基  | DMEM-H + 10% FBS + 1% P/S (选择添加)                                                                                                                 |
| 培养条件   | (1) 气相: 95%空气, 5% CO <sub>2</sub> ; (2) 温度: 37 °C。                                                                                               |
| 传代方法   | 建议 1: 2 或 1: 3 传代, 每 2~3 天传代或换液 1 次。                                                                                                             |
| 细胞冻存   | 无血清冻存液 (VGA-0046-0100); -80 °C 短期保存; 液氮长期保存                                                                                                      |
| 运输条件   | 活细胞常温运输或冻存细胞干冰运输                                                                                                                                 |
| 备注信息   | 如混合稳转细胞株带抗性基因, 建议每传 8~10 代用相应抗性药物筛选一次 (嘌呤霉素: 4~6 µg/mL; 杀稻瘟菌素: 11 µg/mL); 或在细胞培养过程中添加适当浓度的抗性药物以维持细胞株阳性率 (嘌呤霉素: 0.4~0.6 µg/mL; 杀稻瘟菌素: 1.1 µg/mL)。 |



www.vigenbio.com



Technical Support



## 二、细胞到货处理

### 1、常温到货细胞

#### 1.1 T25 细胞培养瓶寄送活细胞（细胞处于培养液中）的处理方法：

- a) 观察细胞培养瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象。若有，请拍照，并及时与技术支持联系。
- b) 用 75%酒精擦拭细胞培养瓶表面，显微镜下观察细胞状态。若因运输问题，部分贴壁细胞从瓶壁脱落,先不要打开培养瓶盖，将细胞置于细胞培养箱内静置培养 2~4 小时，以便稳定细胞状态。
- c) 静置完成后，取出细胞培养瓶，镜检、拍照，记录细胞状态，如有异常现象，例如污染，细胞状态差等，请拍照留证并及时与技术支持联系。
- d) 仅留适量细胞培养液（弃去多余），然后将细胞置于 37 °C，5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养。
- e) 根据细胞习性及时换液、传代、冻存细胞。

#### 1.2 冻存管寄送活细胞（细胞处于全血清中）的处理方法：

- a) 用 75%酒精彻底消毒细胞冻存管，然后在超净工作台将细胞悬液转移至 15 mL 无菌离心管，500 g，室温离心 5 min。
- b) 弃血清，用完全培养基重悬细胞沉淀。
- c) 细胞接种于合适的细胞培养皿或培养瓶，然后置于 37 °C，5%CO<sub>2</sub> 培养箱培养。
- d) 次日观察细胞形态，如有异常现象，例如污染，细胞状态差等，请拍照留证并及时与技术支持联系。
- e) 根据细胞习性及时换液、传代、冻存细胞。

### 2、干冰运输细胞

- a) 将细胞从干冰中取出后立即置于 37 °C 水浴，轻轻转动冻存管，直至管内细胞完全融化（最好在 1~2 min 内解冻）。
- b) 将冻存管转移到超净工作台，用 75% 酒精彻底消毒冻存管。
- c) 将解冻细胞转移到 15 mL 无菌离心管，500 g，室温离心 5 min。





d) 弃细胞冻存液，用完全培养基重悬细胞沉淀。

e) 将细胞接种于合适的细胞培养皿或培养瓶，然后置于 37 °C，5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养。次日观察细胞形态，如有异常现象，例如污染，细胞状态差等，请拍照留证并及时与技术支持联系。

f) 根据细胞习性及时换液、传代、冻存细胞。

### 三、细胞培养

#### 1、细胞复苏

将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37 °C 水浴中快速摇晃至溶解，然后在超净工作台将细胞转移至 15 mL 无菌离心管，加入 4 mL 培养基或无菌 PBS 混合均匀，室温，500 g，离心 5 min，弃上清液，用完全培养基重悬细胞，将细胞移入培养瓶或培养皿培养，第二天更换培养液并检查细胞生长情况。

#### 2、细胞传代

2.1 贴壁细胞传代：当细胞密度约 80% 时，可进行传代培养：

a) 吸出原培养皿中的培养基，PBS 缓冲液润洗细胞两次，加 2 ~ 3 mL 0.25% 胰酶进行消化（注意根据实际情况，把握消化时间）。

b) 镜下观察消化情况，在细胞边缘缩小，贴壁松动时（可用吸管吸起些许胰酶轻轻吹打细胞层某处，即可肉眼可见细胞层脱落，或吹打后镜下观察吹打处，即消化完成，否则继续消化）直接吸掉胰酶，加 3 ~ 4 mL 完全培养基，轻轻吹打细胞层，把细胞层吹落，吹散。

c) 取部分细胞悬液转移至新的培养皿中，添加适当的完全培养基，把细胞悬液打匀，于培养箱中培养。

2.2 悬浮细胞传代：当细胞密度约 80% 时，可进行传代培养：

a) 直接将原培养液和细胞一起转移至 15 mL 或 50 mL 无菌离心管，400 ~ 500 g 室温离心 5 min，吸掉培养基，用新鲜完全培养基重悬细胞。

b) 根据细胞生长特性，按合适比例传代细胞，将细胞悬液转移至新的培养皿或培





维根生物科技有限公司

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenCell®

Tel: 183 628 99236

E-mail: 253540644@qq.com

养瓶，将细胞置于 37℃培养箱中培养。

### 3、细胞冻存

收集细胞，500 g，离心 5 min，弃上清液，加入无血清冻存液（VGA-0046-0100）轻轻悬浮细胞，移入冻存管后进行冻存。

## 四、使用须知

- 1) 本产品仅供购买方单方使用，不得向任何第三方赠送、转让或销售；
- 2) 本产品仅供实验室和体外研究使用，不能用于任何临床检验、诊断、治疗，或任何非法用途；
- 3) 收货 48 h 内如若发现异常，请及时联系售后，逾期视为收货良好；
- 4) 请严格按照本说明书操作，否则造成细胞失活等情形，不予提供补发服务。

## 五、细胞株质检

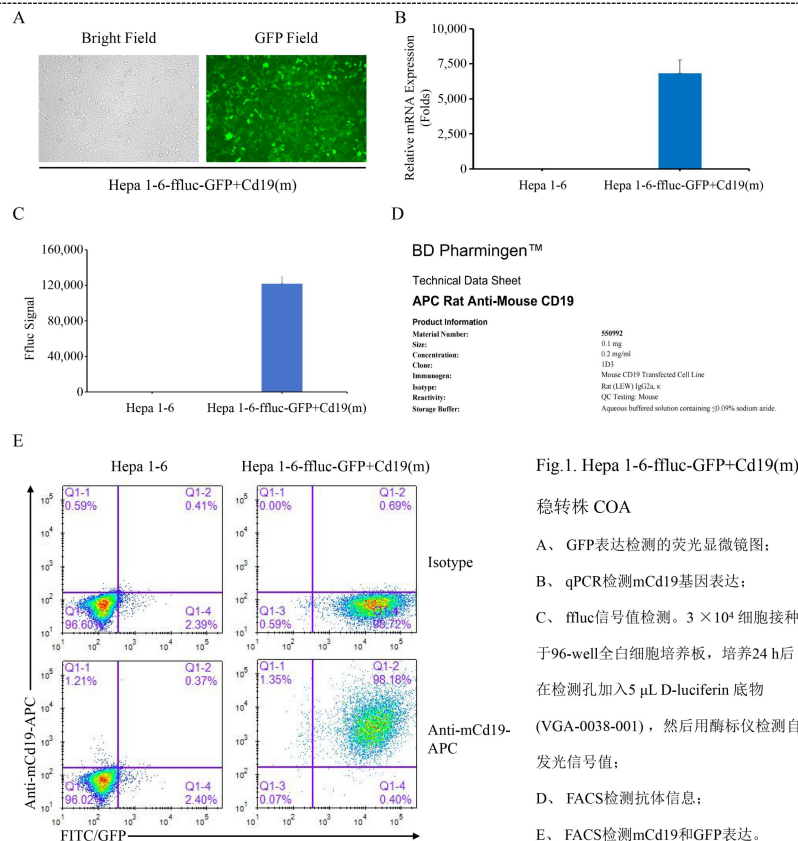


Fig.1. Hepa 1-6-ffluc-GFP+Cd19(m)

稳转株 COA

A、GFP表达检测的荧光显微镜图；

B、qPCR检测mCd19基因表达；

C、ffluc信号值检测。3 × 10<sup>4</sup> 细胞接种

于96-well全白细胞培养板，培养24 h后

在检测孔加入5 μL D-luciferin 底物

(VGA-0038-001)，然后用酶标仪检测自

发光信号值；

D、FACS检测抗体信息；

E、FACS检测mCd19和GFP表达。



www.vigenbio.com



Technical Support