



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

## A549-ffluc+CLDN18.2(h)·EGFP 稳转株说明书

### 一、基本信息

英文名称	A549-ffluc+CLDN18.2(h)·EGFP polyclonal stable cell line
中文名称	CLDN18.2 过表达 A549 稳转株
产品货号	VGC-0013-055PP
稳转基因 1	名称: 萤火虫荧光素酶, Firefly luciferase, ffluc 序列: QBQ18417.1
稳转基因 2	名称: Homo sapiens claudin 18 (CLDN18) 序列: NM_001002026.3
荧光蛋白	eGFP
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	F-12K + 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: 3 ~ 1: 8 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



www.vigenbio.com



Technical Support



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

**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：2 μg/mL；杀稻瘟菌素：10 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：0.2 μg/mL；杀稻瘟菌素：1 μg/mL）。

## 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



www.vigenbio.com



Technical Support



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

- 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。



www.vigenbio.com



Technical Support



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

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养瓶，将细胞置于 37°C 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



www.vigenbio.com



Technical Support

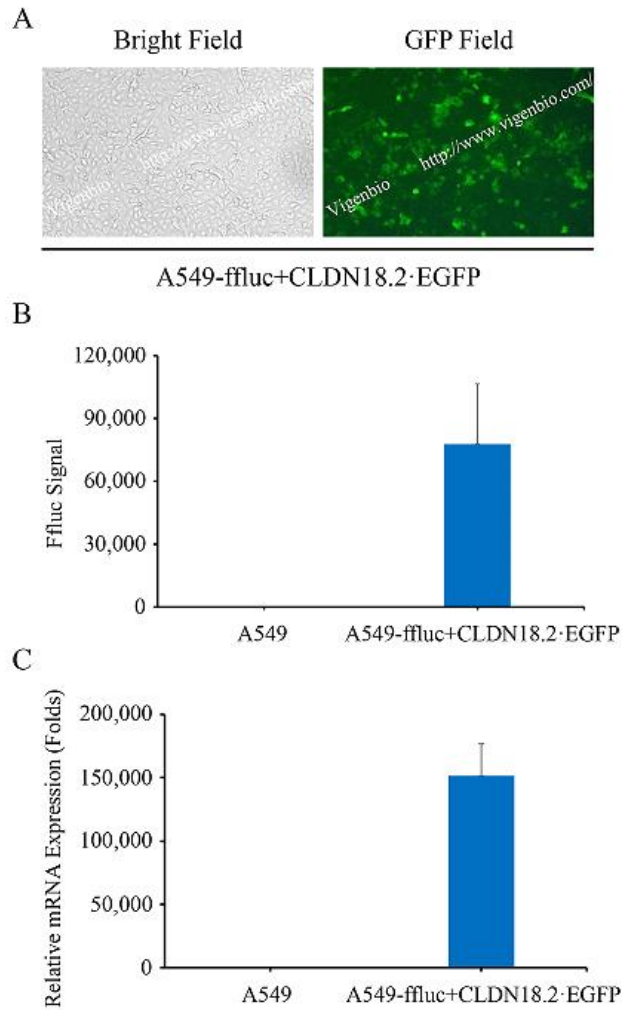


Fig.1. A549-ffluc+CLDN18.2-EGFP 稳转株 COA

A、GFP表达检测的荧光显微镜图；B、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-0038-0001)，然后用酶标仪检测自发光信号值；C、qPCR检测细胞株CLDN18.2表达。

