



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-Puro+mCherry-GFP-LC3B 自噬双标单克隆株 说明书

一、基本信息

英文名称	A549-Puro+mCherry-GFP-LC3B monoclonal stable cell line
产品编号	VGC-0013-032S
产品货号	A549-1H11/S
荧光蛋白	mCherry、GFP
细胞株抗性	Puro R（嘌呤霉素抗性）
产品介绍	<p>本产品基于 A549 细胞（人非小细胞肺癌细胞）构建，稳定表达 mCherry-GFP-LC3B 双标自噬报告系统，并携带嘌呤霉素（Puromycin）抗性基因，便于稳定转染株的筛选和长期维持。</p> <p>当自噬尚未启动或仅停留在自噬体形成阶段时，mCherry 与 GFP 两种荧光信号均可被检测到。一旦自噬体与溶酶体成功融合成为自噬溶酶体，溶酶体内部的酸性环境会使对酸敏感的 GFP 荧光迅速丧失，而耐受酸性条件的 mCherry 荧光则保持稳定。此时，细胞内红色荧光相对增强、绿色信号明显减弱，这标志着自噬已顺利推进至自噬溶酶体阶段。若未能观察到上述红/绿荧光比例的变化，则提示自噬体向自噬溶酶体的转化过程可能存在障碍。</p> <p>该细胞系已稳定转染，通过双色荧光指示，能够实时区分自噬体与自噬溶酶体，动态监测自噬流变化。适用于多种研究场景，包括自噬诱导剂或抑制剂的筛选，以及基因调控对自噬流影响的机制研究等。</p>
细胞株类型	混合稳转 (x)；单克隆株 (√)
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 1×10^6 细胞冻存细胞
完全培养基	F-12K + 10% FBS+1% P/S（选择添加）



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

培养条件	(1) 气相: 95%空气, 5% CO ₂ ; (2) 温度: 37 °C
传代方法	建议 1: 2 ~ 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 (2 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 (0.2 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% CO₂ 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。



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

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%CO₂ 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% CO₂ 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



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

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



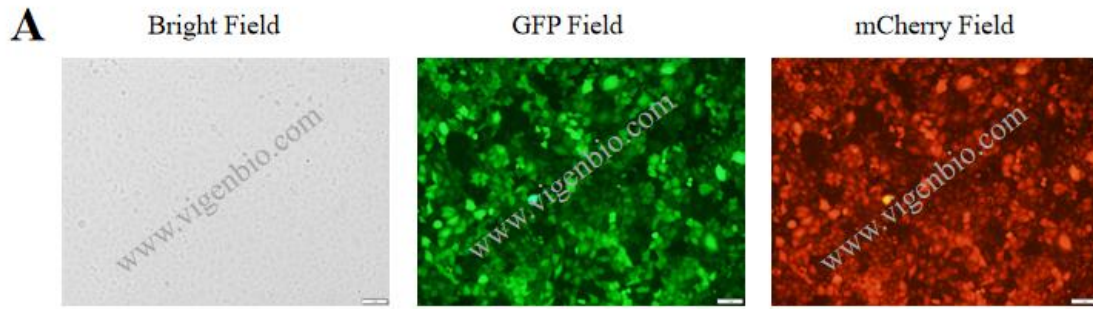
Technical Support



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-Puro+mCherry-GFP-LC3B

Fig.1. A549-Puro+mCherry-GFP-LC3B单克隆株 COA

A、GFP表达检测的荧光显微镜图、mCherry表达的荧光显微镜图



www.vigenbio.com



Technical Support