

产品手册

Luciferase MIA PaCa-2 Cell Line

Luciferase MIA PaCa-2 细胞系

For research use only!

本品仅供科研使用，严禁用于治疗！

版本号：V2.9.2

目录

一、	产品基本信息及组分.....	3
二、	包装、运输及储存.....	3
三、	材料准备.....	4
1.	细胞培养、冻存、复苏试剂准备.....	4
2.	试剂耗材准备.....	4
四、	细胞培养、复苏、冻存.....	5
1.	细胞复苏.....	5
2.	细胞传代（以 10 cm 皿为例）.....	5
3.	细胞冻存.....	5
五、	验证结果.....	6
1.	Luciferase 检测实验.....	6
1)	报告基因检测.....	6
2)	验证结果.....	6
	使用许可协议：.....	7

一、产品基本信息及组分

基本信息

产品编号	产品名称	规格
GM-C25555	Luciferase MIA PaCa-2 Cell Line	1 kit

产品组成

产品编号	产品名称	规格	数量	储存
GM-C26318	Luciferase MIA PaCa-2 Cell Line #2	5E6 Cells/mL	1 管	-196°C
GM-C26320	Luciferase MIA PaCa-2 Cell Line #5	5E6 Cells/mL	1 管	-196°C
GM-C26321	Luciferase MIA PaCa-2 Cell Line #7	5E6 Cells/mL	1 管	-196°C

二、包装、运输及储存

1. 细胞系产品干冰运输，-196°C 以下（冰箱或液氮的气相）长期储存。
2. 接触产品请带手套。请收到产品立即确认产品是否为冻存状态，-196°C 以下（冰箱或液氮的气相）长期储存。
3. 本产品相关 Assay，应在二级生物安全实验室或生物安全柜中进行。

三、 材料准备

1. 细胞培养、冻存、复苏试剂准备

细胞复苏培养基:	DMEM+10% FBS+2.5% HS+1% P.S
----------	-----------------------------

细胞生长培养基:	DMEM+10% FBS+2.5% HS+1% P.S+0.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Puromycin
----------	--

细胞冻存液:	90% FBS+10% DMSO
--------	------------------

Assay Buffer	DMEM+1% FBS+1% P.S
--------------	--------------------

2. 试剂耗材准备

试剂准备

Reagent	Specification	Manufacturer/Catalogue No.
Puromycin	25 mg	Genomeditech/GM-040401-1
Pen/Strep	100 mL	Thermo/15140-122
Fetal Bovine Serum	500 mL	Cegrogen biotech/A0500-3010
DMEM	500 mL	Vivacell/C3110-0500

重要仪器

Equipment	Manufacturer/Catalogue No.
细胞计数仪	ThermoFisher Scientific/Countess 3
酶标仪	Moleculardevices/SpectraMax L

四、 细胞培养、复苏、冻存

1. 细胞复苏

- 37°C水浴锅预热复苏培养基，加入预热后的复苏培养基 5 mL 至 15 mL 离心管。
- 从液氮中取出冻存细胞并迅速放入 37°C恒温水浴锅，将细胞液面浸至水面以下轻轻摇动解冻，直到刚刚融化（通常 2-3 分钟）。
- 用 70%乙醇擦拭冻存管外部以降低污染的几率。在生物安全柜或超净台中将冻存管中的细胞悬液转移到步骤 a) 的离心管中，轻轻混匀， $176 \times g$ ，离心 5 min，使细胞沉淀，弃上清。
- 使用 1 mL 复苏培养基重悬，可取出部分使用台盼蓝染色计数活细胞，活细胞 $\geq 3 \times 10^6$ cells/mL。
- 通过补加复苏培养基的形式，调整活细胞密度到 $4-5 \times 10^5$ cells/mL，根据细胞悬液总体积，将细胞接种到合适的培养皿中。

3. 细胞冻存

- 使用 $176 \times g$ ，5 min 离心收集细胞。
- 使用预冷细胞冻存液（90% FBS + 10% DMSO）重悬细胞，细胞密度调整为 5×10^6 cells/mL，每管 1 mL 分装到细胞冻存管中。
- 拧紧盖子，适当标记后，将冻存管置于梯度降温盒中，-80°C下保存至少 1 天，尽快转移至液氮中。

2. 细胞传代（以 10 cm 皿为例）

注：细胞复苏后，使用复苏培养基；待细胞状态稳定后，再更换为含有抗生素的生长培养基。

- 细胞为上皮样贴壁细胞，伴有圆形漂浮细胞。培养箱中孵育 24-48 h 后，镜下观察细胞状态和密度。首次复苏后，一般 48 h 可进行第一次传代。推荐细胞传代比例为 1:3，2-3 天传代，注意悬浮和贴壁细胞同时收集后传代。
- 收集悬浮细胞，空 10 cm 皿加 2 mL PBS 润洗 1 次。
- 弃 PBS，加 1 mL 0.25% Trypsin-EDTA 消化液，37°C 消化 2-3 min，显微镜下观察。
- 待细胞变圆，细胞间隙明显，部分细胞刚开始脱离瓶壁时，加 2 mL 左右生长培养基混匀终止消化，将细胞小心吹打下来， $176 \times g$ 室温离心 5 min。
- 弃上清，细胞沉淀用生长培养基重悬，根据传代前细胞密度分盘（根据培养皿面积和细胞密度计算，传代后细胞密度为 20-30%）。

注意事项：

细胞贴壁较慢，传代或复苏 36 h 开始贴壁。该细胞正常情况下为贴壁细胞与圆形悬浮细胞同时存在。传代时需将贴壁细胞和悬浮细胞一同收集后再传代。若贴壁细胞密度大于 90%，可忽略悬浮细胞，直接按细胞密度进行传代。

五、 验证结果

1. Luciferase 检测实验

操作步骤可调整优化。本次实验使用 Luciferase MIA PaCa-2 Cell Line 三株单克隆细胞作为被检测细胞，Conc.01 细胞量为 5×10^4 cells，1.5 倍梯度稀释。

1) 报告基因检测

参考报告基因检测说明书。

Luciferase MIA PaCa-2 Cell Line #2	PBS Control	50000 cells	1950 cells
	203	22714137	865610
Luciferase MIA PaCa-2 Cell Line #5	PBS Control	50000 cells	1950 cells
	211	17527187	525102
Luciferase MIA PaCa-2 Cell Line #7	PBS Control	50000 cells	1950 cells
	228	29531730	1226172

2) 验证结果

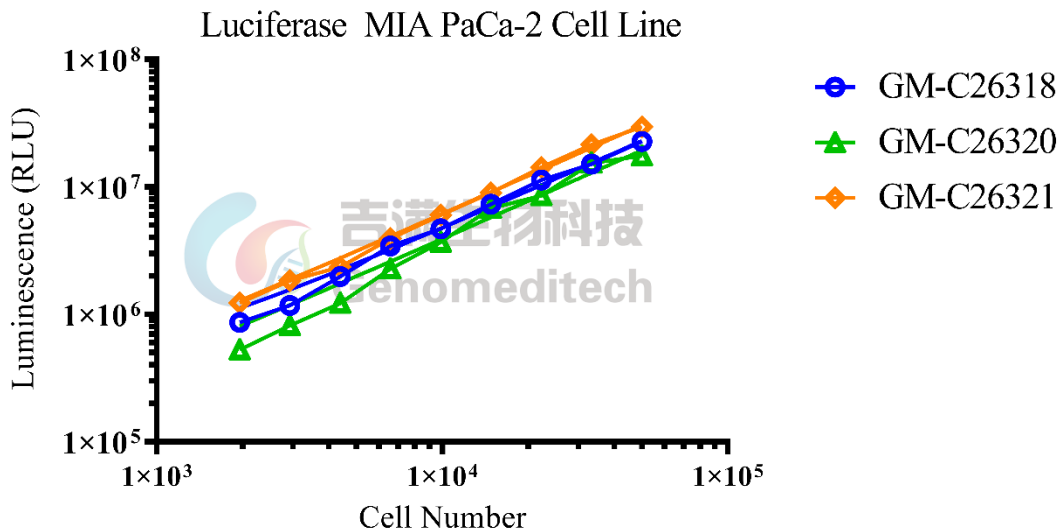


Fig.Luciferase 检测结果

使用许可协议:

吉满生物将其许可材料的所有知识产权，独占的、不可转让的和不可发放分许可的权利授予给被许可人；吉满生物将保留许可材料、细胞系历史包、子代、包括修改材料中许可材料的所有权。

在吉满生物和被许可方之间，被许可方不允许以任何方式修改细胞系。被许可方不得分享、分发、出售、再授权或以其他方式将被许可材料、子代提供给其它实验室、部门、研究机构、医院、大学或生物技术公司等第三方非基于外包被许可人的研究目的而使用。

详情请参考吉满细胞系授权协议。

Genomeditech