小鼠骨髓瘤细胞-绿色荧光蛋白-荧光素酶标记
（5TGM1-eGFP-LUC）

细胞描述

该细胞能引起具有人类骨髓瘤骨病特征的小鼠溶骨性骨病变。细胞系产生白介素-6，但生长不依赖于外源性白介素-6。静脉注射培养细胞的小鼠与静脉注射新鲜骨髓源性骨髓瘤细胞的小鼠发生相同的疾病，包括单克隆免疫球蛋白病和放射性骨病变。鼠痘病毒阴性。该细胞通过慢病毒转染的方式携带 Luc 基因。该细胞稳定表达萤火虫荧光素酶和绿色荧光蛋白，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。

细胞特性

1） 来源：小鼠 浆细胞骨髓瘤
2） 形态：圆形 悬浮生长
3） 含量：>5x10^5 细胞数
4） 规格：T12.5 瓶
5） 用途：仅供科研使用

该细胞为悬浮细胞，我们发货是用 T12.5 瓶装的，方便老师操作。传代时使用【半换液法】对细胞状态有利，因此我库建议您使用【半换液法】进行传代。

您在收到细胞后，不需要通过离心的方式收集细胞，可以将 T12.5 瓶上下混匀数次，后移入 1-2 个 T25 培养瓶中继续培养即可。

静置后可以观察下细胞形态，拍照。

细胞培养步骤

一．培养基及培养冻存条件准备：

1）准备 IMDM 培养基；特级胎牛血清，10%；双抗，1%。

药筛浓度为 0.5ug/ml，培养过程中可不用再添加 puro，如若担心抗性随着传代时间降低，可定期用 0.2ug/ml 浓度 puro 维持，冻存时请勿加药。

2）培养条件： 气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37 摄氏度，培养箱湿度为 70%-80%。

3）冻存液：无血清细胞冻存液。

二． 细胞处理：

1） **冻存细胞的复苏：**

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶（或皿）中 37℃培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2） **细胞传代：**如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法【半换液法】：

悬浮状态下生长的细胞，可以通过向培养瓶中添加完全培养基来维持细胞的生长

状态，一般情况下细胞密度维持在 1×10^5~1×10^6 个/mL（不同细胞对密度要求不同，）可以维持细胞的正常生长。如需分瓶可以将细胞悬液收集到离心管中 1000rpm，离心 5min，弃去上清，补加 1-2mL 培养液后重悬混匀后将细胞悬液按 1：2 的比例分到新 T25 瓶中，添加 6-8ml 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力，后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

3） **细胞冻存:** 收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例；

1. 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 1×10^6~1×10^7 个活细胞/ml.

2. 1000rpm 离心 3-5min，去掉上清。用无血清细胞冻存液重悬细胞 ，按每 1ml 冻存液含 1×10^6~1×10^7 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。

3. 将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80 度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

注意事项：

1. 所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。

2. 建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。