

### 细胞介绍

GRANTA-519 该细胞取自一位 58 岁女性患者在 1991 年高度恶性 B 细胞非霍奇金淋巴瘤 (B-NHL) 复发时的外周血 (当时发生了套细胞淋巴瘤的白血病转化, 处于 IV 期)。这位患者既往有宫颈癌病史。经 PCR 分析, 该细胞系对 EB 病毒 (EBV, 即人类疱疹病毒 4 型/HHV-4) 呈阳性。

### 细胞特性

- 1) 来源: 58 岁女性外周血
- 2) 形态: 淋巴母细胞样, 悬浮生长
- 3) 含量:  $>5 \times 10^5$  细胞数
- 4) 用途: 仅供科研使用。

### 悬浮细胞到货处理:

**GRANTA-519 该细胞为悬浮细胞, 我们发货是用的一个离心管装的, 不是 T25 瓶装, 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, 可以将离心管上下混匀数次, 后移入 2 个 T25 培养瓶中继续培养即可。【即 2 管离心管分到 4 个 T25 瓶中】**

**静置后可以观察下细胞形态, 拍照。**

### 一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 准备 DMEM 培养基; 特级胎牛血清, 10%; 2 mM Glutamax 谷氨酰胺; 双抗, 1%。
- 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°C 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°C 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:

对于悬浮细胞, 传代可参考以下方法:

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  $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$  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

上海葵赛生物科技有限公司

中国 (上海) 自由贸易试验区巴圣路 160 号 8 号楼 3 单元 6005 电话: 13636346891

## QuiCell 葵赛生物

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**：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。

1, 细胞冻存时，取上清，可使用血球计数板计数。

2, 3-5min , 1000rpm 离心去掉上清。用冻存液重悬细胞，按照每 1ml 冻存液含  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  个活细胞/ml 分配到一个冻存管中，注意冻存管做好标识。

### 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。

上海葵赛生物科技有限公司

中国（上海）自由贸易试验区巴圣路 160 号 8 号楼 3 单元 6005 电话：13636346891