

细胞介绍:

该细胞系分离自小鼠腹水，由大连医科学院建立。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 腹水
- 2) 形态: 淋巴母细胞，悬浮生长
- 3) 含量: $>5 \times 10^5$ 细胞数
- 4) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途: 仅供科研使用。

一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 准备 RPMI-1640 培养基; 特级胎牛血清, 10%; 双抗, 1%。

药筛浓度为 2ug/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 1ug/ml 浓度 puro 维持, 冻存时请勿加药。

注意:

a) 该细胞为悬浮细胞, 根据培养经验以及客户的反馈, 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。同时, 您在收到细胞后, 请不要通过离心的方式收集细胞, 可以直接向培养瓶中添加等体积的新鲜培养液, 然后将细胞吹打均匀后移入两个新的 T25 培养瓶中继续培养即可。

- 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:

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 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。

上海葵赛生物科技有限公司

- 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 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 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 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 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。