

细胞介绍

1948 年三月建立了 NCTC clone 929(小鼠结缔组织), 细胞系 L 的克隆。细胞系 L 是最早建立的连续培养细胞系之一, 而 clone 929 是最早的克隆株。从一只 100 日龄的雄性 C3H/An 小鼠的正常皮下疏松结缔组织入脂肪组织中建立了亲本细胞系 L。第 95 代的细胞系 L 使用毛细管法分离单细胞建立了 clone929。检测发现鼠痘病毒阴性。

细胞特性:

- 1) **来源:** 组织: 皮下结缔组织; 疏松结缔组织及脂肪 品系: C3H/An
- 2) **形态:** 成纤维细胞, 贴壁生长
- 3) **含量:** $>5 \times 10^5$ 细胞量
- 4) **规格:** T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) **细胞用途:** 仅供科研使用。

运输和保存: 可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式: (1) 干冰运输, 收到后立即转入液氮或者-80 度冰箱冻存或直接复苏; (2) 存活细胞, 收到后应继续生长, 传代达到细胞生长状态良好时, 再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

细胞接收后的处理:

- 1) 收到细胞后, 请检查发货培养瓶的状况, 若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染, 请拍照后及时联系我们。
- 2) 在显微镜下确认细胞生长状态时, 最好在低倍镜 (4 或 5X 物镜) 下进行, 能准确判断细胞的传代密度。看细胞的形态请在 10X 和 20X 物镜下, 同时给刚收到的细胞拍照, (10X, 20X) 各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存, 作为细胞需要售后时提供收到细胞时细胞状态的依据。
- 3) 观察好细胞状态后, 75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于室温放置 1h。
- 4) 贴壁细胞: 在运输过程中贴壁细胞会有脱落的现象, 如发现贴壁细胞有脱落或者脱落后抱团生长, 可将 T25 瓶置于室温放置 1h, 然后抽出瓶中的培养基和未贴壁细胞 1000rpm 离心 5 分钟, 弃去上清重悬后接种到加有按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基的原培养瓶中 (或新的培养瓶中)。
- 6) 备注: 运输用的培养基 (灌液培养基) 不能再用来培养细胞, 请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 1: 2 传代。

细胞培养步骤

一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 准备 MEM 培养基, 特级胎牛血清 FBS 10% , 双抗 P/S 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:

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 7 号楼 1 单元 4011 电话: 13636346891

QuiCell葵赛生物

1) 复苏细胞：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 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 10cm 皿中，加入约 8ml 培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。

2) 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
2. 加 2ml 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于 37℃ 培养箱中消化 1-2 分钟，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加少量培养基终止消化。
3. 按 6-8ml/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。
4. 将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

注：第一次传代推荐传代比例为 1:2，以后传代比例可根据客户需要自己决定。

3) 细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。

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. 收到细胞后，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。
2. 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。

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 7 号楼 1 单元 4011 电话：13636346891