

细胞介绍

从 1989 年第二次复发的 23 岁急性早幼粒细胞白血病 (APL = AML FAB M3) 女性的骨髓中建立；专利细胞系；细胞携带 t(15;17) PML-RARA 融合基因。提供外显子组和 RNA 序列数据 (参见 Ref 18187 和外显子组序列和 RNA-Seq)，悬浮的单细胞、圆形和多形细胞，极少数是巨细胞。

细胞特性

- 1) 来源：外周血；早幼粒细胞
- 2) 形态：原粒细胞，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。

运输和保存：干冰运输及复苏好存活细胞：(1) 1mL 冻存管包装干冰运输，收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏，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) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

细胞接收后的处理：

- 1) 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于室温约 1h，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) 请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照 (10×, 20×) 各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。
- 3) 悬浮细胞：T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 1h，然后抽出瓶中的培养基和细胞 1000rpm 离心 5 分钟，弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中 (加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基)。
- 4) 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 T25 培养瓶 1: 2 传代。

一. 培养基及培养冻存条件准备：

- 1) 准备 1640 培养基；特级胎牛血清，10%；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%。换液频率，2-3 天换液一次。
- 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。

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

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：

3) **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。

4) **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。用配制好的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。