大鼠肺泡巨噬细胞
(NR8383)

细胞介绍

NR8383 (正常大鼠，1983 年)来源于肺灌洗时的正常大鼠肺泡巨噬细胞。细胞在 gerbil 肺细胞连续培养液存在下培养了大约 8-9 个月。随后，不再需要外源生长因子。通过有限稀释法从单个细胞克隆并亚克隆 NR8383 细胞，并三次用软琼脂亚克隆。细胞表现出巨噬细胞的特性，吞噬酵母多糖和铜绿，非特异性脂酶活性，Fc 受体，氧化降解；分泌 IL-1, TGF-β和 IL-6，可重复地响应外源生长因子。NR8383 细胞响应博莱霉素，分泌 TGF-β 前体。在博莱霉素刺激下，TGF –β mRNA 表达也上升。细胞对内毒素敏感。1-10 钠克/毫升的 LPS 水平抑制增生达 50%。即使达到 0.001 毫克/毫升的水平，LPS 抑制还是无毒且在后续过程中可逆的。
NR8383 细胞株提供了高响应的肺泡巨噬细胞的均一来源，可以用于体外研究巨响细胞相关活性。

细胞特性

1） 来源：肺；巨噬细胞
2） 形态：巨噬细胞，半悬浮生长
3） 含量：>5x10^5 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 瓶置于室温放置约 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）半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞：T25 瓶置于室温放置约 1h，显微镜下观察细胞的情况，若细胞密度在 60%以下，客户需收集 T25 瓶中的悬浮细胞离心后用完全培养基重悬后打回到原培养瓶中继续培养，若细胞生长 70%-90%对细胞进行传代，传代时需要收集培养基中悬浮的细胞离心后回收。
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 F12K 培养基，特级胎牛血清 15 %，GlutaMAX-1 谷氨酰胺 1 %，P/S 1%
2）培养条件： 气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37℃，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 70%-90%，即可进行传代培养。

该细胞轻微贴壁和悬浮培养的细胞，传代可以参考以下方法：

1. 收集：将培养瓶中的悬浮的细胞收集到离心管中。用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。由于细胞贴壁不牢 PBS 润洗后细胞会脱落所以 PBS 也要回收到离心管中。

2. 加入 0.25％（w / v）胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中（T25 瓶 1mL）置于 37℃培养箱中**消化 1-2 分钟（难消化的细胞可以适当延长消化时间），**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**加入 5ml 含 10%FBS 的培养基来终止消化。**

3. 将收集到的悬浮细胞、pbs 清洗液中的细胞和消化下来的贴壁细胞以 1000rpml 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。