

人淋巴瘤细胞—绿色荧光蛋白-荧光素酶标记
(Raji-eGFP-LUC)

细胞介绍

Raji 细胞由 PulvertaftRJV 于 1963 年从一位 11 岁黑人男孩的左上颌骨的 Burkitt 淋巴瘤中分离建立的，是第一个人类造血系统的连续传代细胞，为 B 细胞起源。该细胞中含有 EBV，可作转染宿主。**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：B 淋巴细胞；Burkitt's 淋巴瘤
- 2) 形态：淋巴母细胞样，悬浮生长
- 3) 含量： 5×10^5 细胞数
- 4) 用途：仅供科研使用。

悬浮细胞到货处理：

Raji-eGFP-LUC 该细胞为悬浮细胞，我们发货是用 T12.5 瓶装的，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T12.5瓶上下混匀数次，后移入1个 T25 培养瓶中继续培养即可。

静置后可以观察下细胞形态，拍照。

细胞培养步骤

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%；
a) 药筛浓度为 0.5ug/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 0.25ug/ml 浓度 puro 维持，冻存和传代时请勿加药。
- 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：

上海葵赛生物科技有限公司

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。

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。下面以 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、穿上防护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。