

细胞介绍

SVG p12 细胞是从 8 至 12 周龄胚胎的脑中分离的人胎儿神经胶质细胞后经 SV40 突变体的 DNA 转染得到,其表达 SV40 T 抗原。SVG p12 细胞易受 JC 病毒感染,可用于检测和培养其他人类嗜神经病毒。

细胞特性

- 1) **来源:** 脑,星形胶质瘤;SV40 转染
- 2) **形态:** 成纤维细胞样,贴壁生长
- 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 $\times$, 20 $\times$)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) **贴壁细胞: 细胞在室温中放置 1h,显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况,有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。**若镜下观察细胞的生长密度若在 60%以下,可去除培养瓶中灌液培养基(若有未贴壁的细胞需要离心回收,重悬打入到原培养瓶中),加入新配制的完全培养基 6-8mL,放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80%以上,可以对细胞进行传代处理。传代过程中,若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。
- 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 DMEM 培养基;特级胎牛血清,10%;双抗,1%。
该细胞对血清质量较为敏感,建议您使用特级胎牛血清进行培养
- 2) 培养条件: 气相: 空气,95%;二氧化碳,5%。 温度: 37 $^{\circ}\text{C}$, 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 $^{\circ}\text{C}$ 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,

上海葵赛生物科技有限公司

QuiCell 葵赛生物

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。

对于贴壁细胞传代可以参考以下方法:

1. 弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
2. 加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL), 置于 37℃培养箱中消化 1-2 分钟 (**SVG p12 该细胞参考消化时间 3min**), 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 3-4ml 含 10%FBS 的培养基来终止消化。
3. 轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 3-5min, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养液后吹匀。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。 **SVG p12 传代比例 1:2, 传代周期 3-4 天**

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。

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