

## 细胞介绍

该细胞是由绵羊红细胞免疫的 BALB/c 小鼠脾细胞和 P3X63Ag8 骨髓瘤细胞融合得到的。该细胞不分泌免疫球蛋白，对 20  $\mu\text{g/ml}$  的 8-氮鸟嘌呤有抗性，对 HAT 比较敏感；该细胞可以作为细胞融合时的 B 细胞组分用于制备杂交瘤；鼠痘病毒阴性。**该细胞通过慢病毒转染的方式携带 Luc 基因。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：骨髓瘤
- 2) 形态：淋巴母细胞样，圆形，悬浮生长，不要用力吹打(生长时会沉到瓶底)
- 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。

## 悬浮细胞到货处理：

**Sp2/0-Ag14-eGFP-LUC 该细胞为悬浮细胞，我们发货是用的一个离心管装的，不是 T25 瓶装，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，可以将离心管上下混匀数次，后移入 2 个 T25 培养瓶中继续培养即可。【即 1 管离心管分到 2 个 T25 瓶中】**

**静置后可以观察下细胞形态，拍照。**

## 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%。

**筛选浓度为 2.0 $\mu\text{g/ml}$ ，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 1.0 $\mu\text{g/ml}$  浓度 puro 维持。**

## 注意：

**该细胞培养时存在贴壁部分，轻吹或轻轻敲打培养瓶就会掉下来。**

**该细胞为悬浮细胞，请注意离心收集细胞悬液。**

- 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：

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

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:

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法:

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:

待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。

1, 细胞冻存时，取上清，可使用血球计数板计数。

2, 3-5min，1000rpm 离心去掉上清。用冻存液重悬细胞，按照每 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，注意冻存管做好标识。

### 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