细胞介绍

该细胞对乳汁珠和激活的红细胞有吞噬作用，无表面和胞质免疫球蛋白。可以用佛波醇 TPA 诱导单核细胞分化。

细胞特性

- 1) 来源：急性单核细胞白血病，单核细胞
- 2) 形态：单核细胞，悬浮
- 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×，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 瓶置于室温放置约 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 RPMI-1640 培养基；特级胎牛血清，10%；0.05 mM β-巯基乙醇；双抗，1%。
- 2) 参考传代比例：**传代时控制细胞密度在 $2-4 \times 10^5$ cell / mL，并在细胞生长至 $8-10 \times 10^5$ cell / mL 时进行传代。**
- 3) 参考换液频率：传代时换液
- 4) 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%。
- 5) 冻存液：无血清细胞冻存液
- 6) **【注意事项】：**

该细胞为悬浮细胞，根据培养经验以及客户的反馈，传代时使用【半换液法】对细胞状态较为有利，因此我库建议您使用【半换液法】进行传代。

1. 您在收到我们提供的用 15ml 离心管发货的细胞后，请不要通过离心的方式收集细胞，可以先准备两个新的 T25 培养瓶，然后将细胞混合均匀后移入两个新的 T25 培养瓶中，补加培养基到 10ml。放入到 37℃ 培养箱中。
2. 您在收到的是用 T25 培养瓶发货的细胞，请先通过离心的方式收集细胞，然后将细

上海葵赛生物科技有限公司

胞重悬加入 12ml 按照说明书要求配置的完全培养基吹打均匀后移入两个新的 T25 培养瓶中培养即可。

3. **thp-1 悬浮细胞。**该细胞在培养时更喜欢温和处理，培养时尽量少对细胞进行离心处理以此造成对细胞的伤害。换液时不要全培养基更换，建议您使用【半换液法】进行传代，添加细胞培养基以稀释细胞至维持密度即可。

4. 细胞对血清质量较为敏感，我库建议您使用进口大品牌优质血清进行培养。FBS 不要灭活，如果细胞生长缓慢请尝试使用其他 FBS 或暂时将 FBS 浓度增加到 20%

5. 该细胞的培养液中需添加 β -巯基乙醇（细胞培养级别），若不添加，可能会对细胞状态造成影响。 β -巯基乙醇的稳定性有限，不可将 β -巯基乙醇添加到完全培养基中长期储存，在每次传代或液体添加时再添加 β -巯基乙醇。

β -巯基乙醇（2-巯基乙醇）被添加到淋巴细胞或其他细胞培养物中，因为在培养基中使用的 FBS 中氨基酸半胱氨酸供不应求，而胱氨酸则很多。有些细胞（例如 T 细胞）无法将半胱氨酸转运到细胞质中，必须将其转化为半胱氨酸。 β -巯基乙醇将胱氨酸还原为可被细胞转运的形式，然后转化为细胞生长所需的半胱氨酸。 β -巯基乙醇还是一种还原剂，可以分解培养中细胞产生的许多有毒代谢产物，从而改善细胞周围的环境。

6. 该细胞对细胞密度较为敏感，培养、传代时请注意保持细胞密度在合适的范围（具体请参考细胞说明书）。

7. 该细胞冻存后复苏率较低，冻存时请酌情提高细胞量

8. 通常情况下可以通过向正在生长的细胞中添加完全培养基来维持细胞的生长，每 7 天可以将细胞离心并重悬于新配的培养基中，来完成细胞的全换液。

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°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，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°C 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) **细胞换液:** 通常情况下可以通过向正在生长的细胞中添加完全培养基来维持细胞的生长，每 7 天可以将细胞离心并重悬于新配的培养基中，来完成细胞的全换液。

3) **细胞传代:** 传代时控制细胞密度在 $2-4 \times 10^5 \text{cell} / \text{mL}$ ，并在细胞生长至 $8-10 \times 10^5 \text{cell} / \text{mL}$ 时进行传代。

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。