

## 细胞介绍

U-2932 在 1996 年从患有弥漫性大 B 细胞淋巴瘤的 29 岁女性的腹水中建立，该女性在 16 年前被诊断患有晚期霍奇金淋巴瘤，并且在多次化疗和放疗方案后复发数次以完成缓解；文献中描述的细胞过表达 BCL2、BCL6 和 p53 归入 ABC 样淋巴瘤亚型(活化 B 细胞)。**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：29 岁 女性；腹水；淋巴瘤细胞
- 2) 形态：淋巴母细胞样，悬浮生长
- 3) 含量：>5x10<sup>5</sup> 细胞数
- 4) 规格：1 管 15ml 离心管
- 5) 用途：仅供科研使用。

## 悬浮细胞到货处理：

**U-2932-EGFP-LUC 该细胞为悬浮细胞，我们发货是用的离心管装的，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 2 管离心管分到 4 个 T25 瓶中】**

**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 基础培养基，特级胎牛血清 10%，P/S 青霉素-链霉素 1%

**PURO 药筛浓度为 1.0ug/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 0.5ug/ml 浓度 puro 维持。**

- 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：

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 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。