**人淋巴瘤细胞**

**（****U-937）**

**细胞介绍**

该细胞是由Nilsson K实验室于1974年从一名37岁的患有恶性组织细胞性淋巴瘤的白人男性的胸水中分离建立的。1979年来的研究显示该细胞在人混合淋巴细胞培养物上清、佛波酯、Vit D3、γ-IFN、TNF和维A酸的诱导下可以向终末单核细胞分化。该细胞不合成免疫球蛋白，EBV阴性；可产生溶菌酶、β-2-微球蛋白，受PMA刺激后可产生TNF-α；表达C3R；可作转染宿主；表达Fas，对TNF和抗Fas的抗体敏感。

**细胞特性**

1. **来源：**淋巴瘤
2. **形态：**单核细胞，悬浮生长
3. **含量：**>5x10^5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。

**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）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】对细胞状态有利，因此我库建议您使用【半换液法】进行传代。同时，您在收到细胞后，请不要通过离心的方式收集细胞，可以直接将每一管离心管中的细胞悬液吹打均匀后移入两个新的T25培养瓶中继续培养即可。（即2个离心管中的细胞悬液分到4个T25瓶中）

b）该细胞对血清质量较为敏感，建议您使用进口大品牌特级血清进行培养，

培养，传代时请注意保持细胞密度在合适的范围。

1. 培养条件： 气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37℃，培养箱湿度为70%-80%。
2. 冻存液：无血清细胞冻存液。
3. **细胞处理：**
4. **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℃培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

1. **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1×105~1×106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。

1. **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；
2. 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1×106~1×107个活细胞/ml.
3. 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1×106~1×107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。
4. 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。