

细胞介绍

1971 年 1 月，该细胞由 ReidTW 及其同事从病人右眼切除的肿瘤进行原代培养建立而成，此病人有很强的视网膜母细胞瘤的母系家族遗传性。该细胞的超微结构，如核膜内折、三层膜结构、大的被膜小泡、环孔板、微管、中心粒、基粒等都与原始肿瘤相似。

细胞特性

- 1) 来源：2.5 岁白种人女孩，眼睛，视网膜
- 2) 形态：圆形，成团聚簇 悬浮生长，生长较慢
- 3) 含量： $>5 \times 10^5$ 细胞数
- 4) 规格：2 管 15ml 离心管
- 5) 用途：仅供科研使用。

悬浮细胞到货处理：

Y79 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 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 RPMI-1640 培养基；特级胎牛血清，20%；双抗，1%。
- 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℃ 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

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 8 号楼 3 单元 6005 电话：13636346891

QuiCell 葵赛生物

- 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 8 号楼 3 单元 6005 电话：13636346891