PC-12 大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞(未分化)

一、细胞简介

货号	YFX-CLR008
背景描述	该细胞系来自能移植的雄性大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤。这些细胞表达神经生长因子(NGF)受体。细胞铺在经四型胶原酶包被的培养瓶上，可逆地响应 NGF 诱导产生神经表型。这些细胞不合成肾上腺素。
细胞形态	成团状悬浮、半贴壁；小的形状不规则细胞。
规格	>1x10^6 细胞数量，T25 瓶或者 1mL 冻存管包装。
细胞来源	大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤。
培养基	RPMI-1640 培养基+ 5%优质胎牛血清 (FBS) + 10%马血清 (热灭活) + 1% P/S。
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%。
消化时间	37℃培养箱中消化 1-2 分钟（难消化的细胞可以适当延长消化时间）。
传代比例	1:2-1:5；第一次收到细胞建议 T25 培养瓶 1：2 传代。
换液频率	2-3 天。
细胞冻存液	无血清冻存液。
细胞检测	不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

二、细胞收到后处理方式

1、收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃培养箱放置约 2-3h，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 5×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、半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞：T25 瓶置于 37℃培养箱中约 2-3h，显微镜下观察细胞的情况，若细胞密度在 60%以下，客户需收集 T25 瓶中的悬浮细胞离心后用完全培养基重悬后打回到原培养瓶中继续培养，若细胞生长 70%-90%对细胞进行传代，传代时需要收集培养基中悬浮的细胞离心后回收。

4、备注：运输用的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 。

三、细胞传代（建议一传二）

对于半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞，可以参考以下方法：

1、收集：将培养瓶中的悬浮的细胞收集到离心管中。用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。由于细胞贴壁不牢 PBS 润洗后细胞会脱落所以 PBS 也要回收到离心管中。

2、加入 0.25％（w / v）胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中（T25 瓶 1-2mL，T75 瓶 2-3mL）置于 37℃培养箱中消化 1-2 分钟（难消化的细胞可以适当延长消化时间），然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加入 3-4mL 含 10%FBS 的培养基来终止消化。

3、将收集到的悬浮细胞、pbs 清洗液中的细胞和消化下来的贴壁细胞以 1000rpml 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。

四、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 1×10^6~1×10^7 个活细胞/mL。

2、1000rpm 离心 3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞 ，按每 1mL 冻存液含 1×10^6~1×10^7 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。

五、细胞复苏

1、将恒温水浴锅中的水预热到 37℃。

2、准备一支 15mL 离心管，加入 5mL 完全培养基，放入 37℃水浴锅中预热。

3、戴上护目镜，厚毛线手套后，从液氮罐中取出要复苏的细胞，尽快转入 37℃恒温水浴锅中复温晃动冻存管以提高复温速率。

4、将融化了的冻存管中的细胞吸入事先准备的离心管中，混匀后，1000rpm 离心 5min。

5、准备一个 T-25 培养瓶，写上细胞名称、日期，再加入 4mL 完全培养基。

6、离心完成后弃去上清，用 1mL 完全培养基重悬细胞后，转入 T-25 细胞培养中，混匀后转入 CO2 培养箱中培养静置。

六、运输和保存

1、T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到细胞后请镜下观察细胞生长状态，如铺瓶率超过 85%请立即进行传代操作，如悬浮的细胞较多，请将培养瓶至于培养箱中静置过夜以帮助未死亡的悬浮细胞能够再次贴壁。

2、1mL 冻存细胞悬液装于 1.8mL 的冻存管中，置于装满干冰的泡沫保温盒中进行运输；收到细胞后请尽快解冻复苏细胞进行培养，如无法立刻进行复苏操作，冻存细胞可在-80℃的条件下保存 1 个月。

七、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、从液氮中取出细胞冻存管时，若冻存管内有液氮进入，需拧松冻存管，排出内部残留的液氮，之后拧紧冻存管，置于干冰上，然后放入 37℃水浴中，避免温差太大造成液氮快速气化而爆炸。