

Sp2/0-Ag14 小鼠骨髓瘤细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CLM015
背景描述	该细胞是由绵羊红细胞免疫的 BALB/c 小鼠脾细胞和 P3X63Ag8 骨髓瘤细胞融合得到的。该细胞不分泌免疫球蛋白, 对 20 μ g/mL 的 8-氮鸟嘌呤有抗性, 对 HAT 比较敏感; 该细胞可以作为细胞融合时的 B 细胞组分用于制备杂交瘤; 鼠痘病毒阴性。
细胞形态	淋巴母细胞样, 圆形, 悬浮生长, 不要用力吹打(生长时会沉到瓶底)。
规格	>1x10 ⁶ 细胞数量, T25 瓶或者 1mL 冻存管包装。
细胞来源	骨髓瘤。
培养基	DMEM +10% FBS + 1% P/S。
培养条件	气相: 空气, 100%; 温度: 37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。
传代比例	1:2-1:5
换液频率	每天补液 (如果颜色变黄, 需要离心收集细胞, 重新换新鲜培养液)。
细胞冻存液	进口高质量细胞冻存液。

二、细胞收到后处理方式

- 收到细胞后, 75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37°C 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。
- 请在 4 或 5 \times 显微镜下确认细胞状态, 同时给刚收到的细胞拍照 (10 \times , 20 \times) 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。
- 贴壁细胞: 细胞在 37°C 培养箱中放置 2-3h, 显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况, 有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60%以下, 可去除培养瓶中灌液培养基 (若有未贴壁的细胞需要离心回收, 重悬打入到原培养瓶中), 加入新配制的完全培养基 6-8mL, 放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80%以上, 可以对细胞进行传代处理。传代过程中, 若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

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

如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

该细胞轻微贴壁和悬浮培养的细胞, 传代可以参考以下方法:

- 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 也要回收离心管中。
- 将收集到的悬浮细胞、pbs 清洗液中的细胞以 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 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 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 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 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。

五、细胞复苏

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。

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°C 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。