

BETA-TC-6 小鼠胰岛素瘤胰岛 Beta 细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CLM059
背景描述	这株细胞来源于转基因小鼠中生长的一个胰腺肿瘤(胰岛素瘤)。这种小鼠携带了大鼠胰岛素 II 基因启动子调控的 SV40 早期基因的假基因结构。细胞包含丰富的胰岛素和小量的胰高血糖素及生长抑素。响应葡萄糖而分泌胰岛素。
细胞形态	上皮细胞样, 贴壁生长, 少量悬浮。 注: Beta-TC-6 细胞生长缓慢, 这些细胞从冷冻保存中恢复需要几天的时间, 开始时通常具有少量可存活的漂浮细胞, 其最终会形成簇并粘附在培养瓶底部, 它们成簇地连接并形成堆积细胞的岛屿。细胞不会完全百分之百融合, 培养物上会粘附可存活的漂浮细胞, 可通过温和离心保留。在添加细胞前, 培养基至少要提前 15-30 分钟平衡温度和 PH。
规格	>1x10 ⁶ 细胞数量, T25 瓶或者 1mL 冻存管包装。
细胞来源	小鼠 胰岛素瘤。
培养基	DMEM 高糖 + 15% FBS + 1% P/S。 注: 该细胞在 DMEM(含 1.5g/L NaHCO₃)培养基中生长良好, 大部分品牌的 DMEM 含有较高浓度的 NaHCO₃ (3.7g/L), 若使用 DMEM (3.7g/L NaHCO₃) 培养基培养细胞时需要提高 CO₂ 浓度 (7%-10%) 。
培养条件	气相: 空气, 90%; 二氧化碳, 10%; 温度: 37℃; 培养箱湿度为 70%-80%。 注: 此为使用 DMEM 高糖培养基的培养条件。
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。

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℃ 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×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。
- 贴壁细胞: 细胞在 37℃ 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。
- 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)

该细胞为悬浮和轻微的贴壁细胞, 传代可以参考以下方法:

- 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°C 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 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。

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、选择指数生长期的细胞, 吸去培养液, 加 PBS 清洗 1-2 遍。去 PBS, 加入 0.25% 胰酶 1.5mL 润洗 10 秒, 去胰酶。将培养瓶放 37 度培养箱, 靠残余胰酶继续消化细胞直至细胞变圆, 拍打瓶侧使细胞脱落。细胞消化下来后, 加 5mL 培养液全部吹打下来, 再 1000RPM 离心 3 分钟。
- 2、加入 1-1.5mL 成品冻存液, 分装至 2mL 冻存管里, 将冻存管放入充满异丙醇的程序降温盒中, 之后转入-80°C 度冰箱过夜, 第二天再转至液氮。

五、细胞复苏

- 1、将恒温水浴锅中的水预热到 37°C。
- 2、准备一支 15mL 离心管, 加入 5mL 完全培养基, 放入 37°C 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°C 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°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、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°C 水浴中, 避免温差太大造成液氮快速气化而爆炸。