

细胞描述:

尽管较早的报道说这株细胞包含腺病毒 5 DNA 病毒基因组的左端和右端,现在已经清楚只存在左端序列。这株细胞适于滴定人腺病毒。细胞表达一种不寻常的由整联蛋白 beta-1 亚基和玻联蛋白 alpha-v 亚基组成的玻联蛋白细胞表面受体。Ad5 插入片段进行了克隆和测序,结果表明碱基 1-4344 插入到了 19 号染色体 (19q13.2)。

细胞特性

- 1) 来源: 胚胎肾;
- 2) 形态: 上皮细胞样, 贴壁生长, 贴壁能力较弱
- 3) 含量: $>5 \times 10^5$ 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。

细胞接收后的处理:

- 1) 收到细胞后, 75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于室温放置约 1h, 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 5X 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) 贴壁细胞: **细胞在室温放置约 1h, 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。
- 4) 备注: **运输用的培养基 (灌液培养基) 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。**

一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 准备 MEM 培养基; 特级胎牛血清, 10%; 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 70%-90%, 即可进行传代培养。

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

QuiCell 葵赛生物

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。

2. 加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1mL) 置于 37℃ 培养箱中 **消化 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 **5ml 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。

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。