

小鼠单核巨噬细胞白血病细胞-绿色荧光蛋白-荧光素酶标记 (RAW264.7-eGFP-LUC)

细胞描述

此细胞株源自 Abelson 鼠科白血病病毒诱导的肿瘤。slg-, Ia-抗原、Thy-1.2 表面抗原阴性。此细胞株不分泌可检测到的病毒颗粒，XC 斑点形成试验阴性。可以胞饮中性红并吞噬乳胶颗粒与酵母聚糖。可以抗体依赖性地分解绵羊红血球与肿瘤靶细胞。LPS 或 PPD 处理 2 天可诱导分解红血球但对肿瘤靶细胞无作用。**该细胞通过慢病毒转染的方式携带 Luc 基因。该细胞稳定表达萤火虫荧光素酶和绿色荧光蛋白，可用作萤火虫荧光素酶活性检测中的阳性对照，也可用于活体动物成像实验。**

细胞特性

- 1) 来源：鼠科白血病病毒诱导的肿瘤；单核细胞；巨噬细胞
- 2) 形态：不规则圆形，纺锤状，贴壁细胞，少量悬浮。
- 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。

运输和保存：干冰运输及复苏好存活细胞：(1) 1mL 冻存管包装干冰运输，收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。(2) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

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) 半贴细胞或贴壁不牢 (悬浮) 细胞：**T25 瓶置于室温下 1h，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 (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。**

细胞培养步骤

一. 培养基及培养冻存条件准备：

- 1) 准备 DMEM 培养基；特级胎牛血清 10 %；P/S 青霉素-链霉素 1%。**PURO 筛选浓度为 4ug/ml，培养过程中可不用再添加 puro，如若担心抗性随着传代时间降低，可定期用 2ug/ml 浓度 puro 维持，冻存和传代未贴壁 (部分细胞悬浮) 时请勿加药。**
- 2) 注意事项：**细胞养的时候每天要吹打下来，不需要胰酶消化，重新再铺板。这种方法比较好用。也可以用以下方法。**

(a) 在细胞生长的初始阶段，细胞以贴壁的形式生长并呈现出长方体的形态

上海葵赛生物科技有限公司

和有“伪足”延伸。随着培养时间的增加，细胞呈现圆形并以叠加的形式生长。细胞密度达到一定的程度，会有细胞以悬浮的方式散落到培养基中，镜下观察会发现悬浮和贴壁的细胞会同时出现。(b) 该细胞形态上包含松散贴壁的纺锤形和圆形或者立方形。当细胞密度较大时，细胞会轻微脱落变圆或者许多细胞堆积在一起，有些细胞甚至脱落漂浮。这些漂浮的细胞是存活的，在传代时应收集起来，离心后细胞沉淀可以继续培养。

3) 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%。

4) 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：

该细胞用吹打的方式来替代胰酶，实在吹打不下来的，首次可以用胰酶消化下来，大概需要 5-7 分钟左右，后续每天传代的时候都用吹打的方法，收集细胞后离心去上清，重悬后接种到新的装有新鲜培养液的培养瓶内。收货后第一次传代 1:2 进行，后续可以根据实际的情况以 1:2~1:4 的比例进行传代。

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. 1, 细胞用细胞刮铲替代胰酶来对细胞进行处理。用无菌细胞刮铲刮拭细胞附着培养表面将细胞刮落，收集细胞。

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。