

人视网膜神经胶质瘤细胞-绿色荧光蛋白-荧光素酶标记 (WERI-RB-1-eGFP-Luc)

细胞介绍

WERI-Rb-I 细胞株是 1974 年 R.M. McFall 和 T.W. Sery 建立的两株人眼癌细胞系中的一株。细胞能在 Difco Bacto-Agar 中存活但不形成克隆。扫描电镜显示在表面囊泡, 板状伪足和微绒毛在数量上和频率上的改变。细胞分化研究, 肿瘤治疗的动物模型和生化评价都涉及这株细胞。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: 视网膜
- 2) 形态: 圆形细胞聚集成葡萄状, 悬浮生长
- 3) 含量: $>5 \times 10^5$ 细胞数
- 4) 规格: 1 管 15ml 离心管 (灌满完培)
- 5) 用途: 仅供科研使用。

悬浮细胞到货处理:

WERI-RB-1-eGFP-Luc 该细胞为悬浮细胞, 我们发货是用的一个离心管装的, 不是 T25 瓶装, 方便老师操作。传代时使用【半换液法】对细胞状态有利, 因此我库建议您使用【半换液法】进行传代。

您在收到细胞后, 不需要通过离心的方式收集细胞, 可以将离心管上下混匀数次, 后移入 2 个 T25 培养瓶中继续培养即可。【即 1 管离心管分到 2 个 T25 瓶中】

静置后可以观察下细胞形态, 拍照。

一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 准备 IMDM 基础培养基培养基; 特级胎牛血清, 15%; GlutaMAX L-谷氨酰胺 1% 双抗, 1%。

筛选浓度为 $1.0 \mu\text{g/ml}$, 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 $0.5 \mu\text{g/ml}$ 浓度 puro 维持。

- 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 80%-90%, 即可进行传代培养。

对于悬浮细胞, 传代可参考以下方法【半换液法】:

QuiCell 葵赛生物

悬浮状态下生长的细胞，可以通过向培养瓶中添加完全培养基来维持细胞的生长状态，一般情况下细胞密度维持在 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个/mL（不同细胞对密度要求不同，）可以维持细胞的正常生长。如需分瓶可以将细胞悬液收集到离心管中 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。