

Y79-GFP+LUC 人视网膜母细胞瘤细胞使用说明书

细胞名称 Cell name	Y79-GFP+LUC 人视网膜母细胞瘤细胞
货号 NO.	LG0043
描述 Description	<p>这株 y79 系由 t.w. reid 及其同事于 1971 年 1 月通过摘除后立即获得的右眼原发肿瘤的外植体培养分离。捐赠者有很强的视网膜母细胞瘤家族史。据报道，超微结构特征包括核膜信息、三重膜结构、微管、大包膜泡、中心粒、基体和环状片层与原肿瘤相似。</p> <p>通过慢病毒感染的方式使 Y79 细胞稳定表达绿色荧光蛋白(Green Fluorescent Proteins)和萤火虫荧光素酶(firefly luciferase)，感染后经嘌呤霉素(puromycin)筛选获得稳转细胞株，具体操作过程详见检测报告。建议收到细胞后先进行细胞体外分析，并及时向我们反馈；扩增时用含 puro (1-2ug/ml) 的完全培养基维持培养，请务必在动物实验前再次进行检测，若没有进行检测影响了您的实验，本公司将不承担您的实验损失。</p>
种属 Species	人
组织 Tissue	眼,视网膜
形态 Morphology	多细胞集群
培养特性 Culture Properties	悬浮
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的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
培养基 Culture Medium	<p>推荐自配培养基: RPMI1640 (品牌: 中乔新舟 货号: ZQ-200) +20% FBS (中乔新舟 货号: AU0600) +1%双抗 (中乔新舟 货号: CSP006)</p> <p>推荐完全培养基: 中乔新舟 货号: ZQ-218</p> <p>温度: 37°C</p> <p>气相: 95%空气, 5%二氧化碳</p>
细胞复苏 Cell Thawing	<p>注意:低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶分别加入约 2ml 和 7ml 培养基。 2.将冻存管放入 37°C 水浴中，握住冻存管晃动，直到内容物完全融化。立即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒 75%乙醇，移至无菌区。 3.小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞，加入到准备好的 15ml 离心管中 1000rpm, 5min 离心。 4.弃上清，轻弹管底将细胞弹散，加入约 1ml 培养基重悬细胞并转入 T-25 培养瓶中，轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要，松开阀盖，以便气体交换。 5.将培养瓶放入 CO₂ 培养箱中培养。 6.过夜后，观察细胞形态和数量，及时补充培养基(补液量不要超过原体积)。
传代 Subculturing	收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，待其恢复细胞基本生长状态后，将整瓶细胞及培养液分批离心，详细操作参考下面步骤。

	<p>1. 缓冲后, 用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内, 严格无菌操作, 打开细胞培养瓶, 若培养瓶上无特殊标注, 以 1000rpm, 5min 将所有细胞悬液分别离心后收集于离心管中, 半悬浮细胞, 悬浮细胞操作同上。传代或扩增时用含 puro (1-2ug/ml) 的完全培养基维持培养</p> <p>2.根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养 (建议第一次处理时分 2 个 T-25 培养瓶培养每瓶加培养基约 7ml), 第二天根据培养基颜色和细胞密度判断后补液;</p> <p>3.对于悬浮细胞和半悬浮细胞, 请根据细胞数量、培养基体积和培养基颜色判断后及时进行补液(补液量不要超过原体积)。</p> <p>4.待细胞密度达到 80%以上, 可进行分瓶或换液, 换液时将所有细胞培养液 1000rpm, 5min 离心, 不建议频繁进行离心。</p> <p>5.离心后弃上清, 加入新鲜培养基重悬细胞, 根据细胞数量分瓶培养。</p> <p>6.如果没有特别说明, 收到细胞后的第一次传代比例为 1:2, 培养液必须常温。</p> <p>注: 1. 观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察, 以便正确的判断细胞密度; 观察细胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察;</p> <p>2. 瓶中运输的培养液不能重复使用, 请换新鲜培养液培养;</p> <p>3.悬浮细胞聚团生长这个现象, 如果在培养期间出现较大团块时可在补液时轻轻吹匀细胞, 有部分小团块属于正常现象; 细胞达到传代密度时出现较大团块, 将细胞离心后去除上清轻弹管底沉淀再重悬进行接种;</p> <p>4.细胞对血清质量较为敏感, 建议使用进口大品牌优质血清进行培养;</p> <p>5.瓶中运输的培养液不能重复使用, 请及时更换新鲜培养液;</p> <p>6.请保持无菌操作, 瓶盖开启前请将培养瓶瓶口再次消毒、过火;</p> <p>7.对于半悬浮细胞, 如有必要可用低浓度消化液消化贴壁细胞。</p>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件: 无血清细胞冻存液 (中乔新舟 货号: CSP042)</p> <p>保存条件: 液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<p>1.在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂, 漏液等, 如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</p> <p>2.贴壁细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 如细胞大部分又贴回瓶底, 表明细胞活力正常, 剩余少量漂浮的细胞可以去掉, 留 8-10ml 培养液培养观察, 细胞生长至汇合度到达 85%左右, 进行消化传代; 如细胞仍不贴壁, 将细胞离心收集转到新培养瓶, 原培养瓶加部分培养液继续培养, 注意观察。如细胞仍不能贴壁, 请用台盼蓝染色鉴定细胞活力, 并请及时拍照 (多倍数多视野), 包括染色照片, 并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法)</p> <p>3.悬浮细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rpm, 5min), 加入适量培养基, 根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法)</p> <p>4.半悬细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rpm, 5min), 重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大, 可将贴壁细胞消化下来, 与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件, 防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法)</p> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系, 我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>