

mutudc1940 永生化小鼠树突状细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	mutudc1940 永生化小鼠树突状细胞
货号 NO.	ZQ1051
描述 Description	
种属 Species	小鼠
组织来源 Tissue	脾
形态 Morphology	
培养特性 Culture Properties	半悬浮细胞
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： RPMI-1640 (中乔新舟 货号：ZQ-200)+20%胎牛血清（中乔新舟 货号：ZQ500-A）+1%双抗（中乔新舟 货号：CSP006）+0.05mM 2-Mercaptoethanol（中乔新舟 货号：CSP005）</p> <p>配套完全培养基：（中乔新舟 货号：ZM1051）</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：1.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。 2.提前室温预热培养基。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基； 2.将冻存管放入 37°C 水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后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悬液，加入到准备好的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min； 4.弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶（建议加液量：5~7ml）； 5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要（如使用不透气瓶），松开阀盖，以便气体交换。 6.将培养瓶放入 CO₂ 培养箱中培养。
传代 Subculturing	<p>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> <p>（一）细胞未长至 85%时，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，留 6-8ml 培养液继续培养，以 1000rpm, 5min 将剩下的细胞悬液分别离心后收集于离心管中，离心后的细胞量进行放回培养。</p> <p>（二）细胞已长满（达 85-95%）。即可进行传代，具体步骤如下：</p>

中乔新舟

	<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, 以 1000rpm, 5min 将所有细胞悬液收集于离心管中离心, 半悬浮细胞, 悬浮细胞操作同上。</p> <p>2. 悬液收集于离心管后, 培养瓶用 PBS 洗涤 1-2 次;</p> <p>3. 加入 1.0ml 胰酶消化液, 37°C 消化约 30s - 3min, 显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞回缩 变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落, 则迅速拿回操作台, 加入至少双倍的完全培养液, 终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次, 使其变成细胞悬液;</p> <p>3. 将消化后细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min, 所有离心管离心后, 弃上清, 轻弹管底, 将细胞弹散;</p> <p>4. 加入新鲜培养基重悬细胞, 进行传代, T25加7.5ml培养基。传代后细胞3天左右贴壁, 期间不用换液, 若培养基营养消耗过多需要换液时, 先收集培养瓶中的细胞悬液于离心管中离心重悬, 然后在T25中加7.5ml培养基继续培养。</p> <p>5. 如果没有特别说明, 建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</p> <p>6. 培养基换液: 每隔 1 至 3 天, 此细胞堆叠生长, 实际密度比显微镜下观察多, 对培养基营养要求很高, 需密切观察培养基使用状况, 及时换液防止细胞营养不良脱落。</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. 悬浮细胞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>3. 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>4. 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>注意:</p> <p>培养板需预先进行包被 (包被液浓度为: 0.15mg/ml Rat tail type-I collagen solution ; 推荐使用: 中乔新舟: CSP145)</p> <p>培养板包被:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、准备配置好上述包被液组分 (25cm² 底面积, 需加入 300ul 包被液和 2ml 纯水)。 2、向培养板中加入包被液, 轻轻晃动至培养板底部全部覆盖均匀。 3、将培养板置于 4°C, 孵育 24h。 4、使用前, 将包被液吸走, PBS 洗涤一次。
<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>	<ol style="list-style-type: none"> 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与我们联系。 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) 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), 加入适量培养液。

中乔新舟

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）

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）

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。