

32D 小鼠 IL-3 依赖性细胞

货号: ZQ0568

I 产品说明

细胞名称	32D 小鼠 IL-3 依赖性细胞
英文名称	32D
细胞形态	淋巴细胞
生长特性	悬浮
培养方案	RPMI-1640 (中乔新舟货号: ZQ-200) + 10%胎牛血清 (中乔新舟货号: ZQ0500) + 1%双抗 (中乔新舟货号: CSP006) + 10U/ml rmlL-3
	推荐完全培养基, 中乔新舟货号: ZM0568
	培养环境: 95%空气+5%二氧化碳, 温度: 37°C
冻存密度	悬浮细胞/半贴半悬细胞: 每毫升 3-5x10 ⁶ 冻存一管 (1mL/管)
冻存条件	推荐冻存液 (中乔新舟货号: CSP042)
质量检测	细菌、真菌、支原体检测均为阴性;
	细胞活力 > 95%; STR 鉴定正确
传代比例	1: 2-1: 4
换液频率	2-3 次/周
产品规格	干冰运输, 1x10 ⁶ cells/冻存管*1 支;
	常温运输, 1x10 ⁶ cells/T25 培养瓶*1 瓶
储存温度	活细胞: 37°C;
	冻存管: -196°C



I 参考资料

细胞背景描述

建立于感染朋友鼠白血病病毒的 C3H/HHJ 小鼠的长期骨髓培养基;细胞是依赖于组织的生长因子。

倍增时间	~15 hours (DSMZ=ACC-411)
组织来源	骨髓
细胞类型	因子依赖细胞系
生物安全等级	BSL-1
细胞保藏中心	DSMZ; ACC-411 RCB; RCB1145
供应限制	仅供科研使用

I 文献奖励

科研论文引用中乔新舟产品并成功见刊，可享文献奖励。

- 发表[中文论文]请标注：32D 小鼠 IL-3 依赖性细胞(ZQ0568)由上海中乔新舟生物科技有限公司提供;
- 发表[英文论文]请标注：32D(ZQ0568)were kindly provided by Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co.,Ltd." 或 "ZQXZbio"

获取详情方式

- 关注【中乔新舟】公众号，在菜单栏点击快速查询，选择文献奖励，即可查看文献奖励详细规则;
- 咨询官方客服，获取文献奖励详细规则。

****活动最终解释权归中乔新舟生物所有****



I 细胞培养操作方法

【注意事项】

1. 该细胞为悬浮细胞。根据我司培养经验 A:当培养基颜色比较黄时, 建议离心换液,细胞沉淀用手指弹松后添加完全培养基均匀移入两个新的 T25 培养瓶中继续培养即可(1:2 传代)。B:细胞数量多, 液体不黄, 建议使用【半换液法】添加一半新培养基并进行分瓶(1:2 传代)。
2. 该细胞在培养过程中, 可能会有少量贴壁或聚集成小团生长, 属于正常情况。传代时可以轻轻打散, 如少许细胞已贴壁则传代时丢弃, 小团生长的细胞正常传代培养即可。
3. 该细胞对细胞密度较为敏感, 培养、传代时请注意保持细胞密度在合适的范围。
4. 该细胞较难复苏, 复苏后需要约 7 天左右才可能恢复至正常状态。刚复苏后, 细胞生长缓慢且会出现黑色细胞碎片, 少量细胞碎片不影响细胞正常生长, 待细胞恢复生长后用半换液法可以稀释碎片。
5. 细胞冻存时务请提高细胞密度, 建议 1 个 T25 培养瓶中含有 $3-5 \times 10^6$ 细胞量时冻存一支。
6. 该细胞对血清质量较为敏感, 我司建议您使用优质胎牛血清进行培养或选择订购我司配套 THP-1 完全培养液。

培养须知

1. 准备好适合细胞系生长的完全培养基。将培养基预热至室温 (25 度), 水浴或培养箱保持在 37°C。
2. 细胞从培养箱中取出, 放显微镜台静止 3-5min 后观察细胞汇合度, 当细胞密度达到 80%左右即可进行传代。或使用细胞计数仪对细胞密度进行计数。
3. 用移液管轻柔吹打培养瓶中的细胞, 使细胞均匀分散。收集细胞悬液进行离心 1000rpm (125-300g) 5-10 分钟, 轻轻吸去上清液, 弹松细胞沉淀。
4. 用适量完全培养基将细胞密度调整至每毫升 $0.2-0.4 \times 10^6$ 。将细胞悬液转入培养瓶中, 通常为 1:2 或 1:3 的比例。
5. 当细胞密度不高, 培养基颜色无明显变化可不进行换液, 细胞密度只有 50%-60%可补充培养基 2-3mL。T25 培养瓶培养基不超过 10mL。
6. 对于细胞抱团生长且不能吹散的细胞, 细胞状态好, 可直接添加完全培养基进行分瓶。细胞密度不高, 液体黄的可以沉降法进行换液、再补液。培养液很黄时建议低速离心换液。
7. 培养期间活细胞密度不能超过每毫升 1.0×10^6 。悬浮细胞培养过程中会有轻微部分细胞会贴壁, 轻柔吹打即可脱落, 若吹打不下来可丢弃。
8. 细胞碎片多或死细胞多可低速离心去除 800rpm 3-5min。传代操作请按细胞培养操作指南进行。对细胞培养方面有任何问题者, 请联系我司售后支持部门。

传代步骤

1. 液氮取出的细胞放入干冰中转移到细胞房, 提前准备好完全培养基, 离心管;
2. 冻管细胞在 37°C 水浴中迅速解冻 (大约 1-2 分钟)。为了减少污染的可能性, 保持冻管瓶盖在水浴液面之上。一旦大部分内容物解冻, 立即将冻管移出水浴, 75%的乙醇消毒冻管外壁;
3. 将内容物转移到含 3-6mL 完全培养基的离心管中, 轻轻混匀, 离心 (125 g, 3~5 分钟) 1000-1200rpm 去除培养基, 细胞沉淀用手指弹松, 添加 3mL 完全培养基混匀细胞并进行计数, 用适量完全培养基将细胞密度调整至 $0.6-2.0 \times 10^5$, 转移至培养瓶中, 于培养箱中静置培养。建议 T25 培养瓶添加 5-7mL 完全培养基。当密度达到 80%以上时传代。

复苏步骤

1. 细胞密度 80%以上, 活细胞百分率达 95%以上时, 将细胞按照以上步骤进行消化收集细胞沉淀进行冻存;
2. 细胞沉淀用适量 4°C 冻存液 (货号: CSP042) 重悬, 建议一瓶 T25 细胞冻存一管 (1mL/管), 直接将分装好的细胞冻存管置于 -80°C 超低温冰箱中过夜, 若需液氮长期保存, 需先置于 -80°C 至少一天后方可转移至液氮罐中。

冻存步骤

注: 若不是我司冻存液请按照冻存液说明书操作, 若是自配冻存液需梯度降温冻存(2-8°C, 放置 40min; -20°C, 放置 30min-60min; -80°C 放置一天后转移至液氮保存)或使用程序降温盒降温后, 再转移至液氮中保存。



I 到货操作指南

活细胞

1. 收到细胞，请拍 40X、100X、200X 各 2-3 张照片；
2. 用 75%酒精擦拭瓶身，封口膜可以不用撕去，满瓶培养基状态置于培养箱中静置培养 2~4h 后进行操作；悬浮细胞请将培养瓶竖立在培养箱静置，贴壁细胞/半贴壁半悬浮细胞平放静置，在此期间，请查看说明书以确定细胞属性；
3. **贴壁细胞**：观察细胞密度约 80%则可正常传代处理（有的原代细胞不可传代，请仔细阅读细胞说明书并根据实际情况决定）；观察细胞密度若细胞密度不到 80%，建议更换新鲜完全培养基再培养 1 天后根据密度进行处理；
4. **悬浮细胞**：观察细胞密度，分瓶(5-7mL/瓶完全培养基（一般出库时可以保证 1:2））；
5. **半悬半贴细胞**：先收集上清悬浮细胞再消化贴壁细胞(部分细胞不能胰酶进行消化，请仔细阅读细胞说明书并根据实际情况决定)。

注：

- 原代/永生化细胞请提前做好完培；细胞系产品若您没有备合适的培养基：可取出原瓶多余培养基(小部分细胞可能需要额外补足血清)，离心去除细胞碎片后 4℃冰箱保存，可作为应急使用；
- 建议在首次传代成功、细胞状态稳定后，立即冻存备份 2-3 支冻存管，以备后续实验使用，防止因意外丢失。首次传代按照等比例 1:2 进行；
- 到货发现有任何异常现象，污染，漏液，请及时拍照并反馈。

冻存管

1. 收到冻管，查看干冰量，冻管外观是否正常；
2. 若计划 7 天内复苏：可暂将细胞管存放于 -80℃ 冰箱；计划超过 7 天复苏或长期保存：务必将细胞管转移至液氮罐中长期存储；

注：若出现冻管外观异常，请拍照并反馈。

部分细胞由于贴壁松散，会出现运输后漂浮，冬天气温低时也会出现细胞收缩漂浮，属于不可避免因素，正确处理后可以正常生长

贴壁细胞漂浮的处理方法

1. 将培养瓶内所有培养基转入无菌离心管，离心收集细胞（1200rpm，3-5min）去除旧培养基；
2. 用 PBS 重悬细胞，将所有细胞收集到一个离心管中，再次离心（1200rpm，3-5min）去除 PBS；
3. 加入 1mL 左右含有 EDTA 的 0.25%胰酶重悬细胞，混匀即可，建议震动离心管混匀，避免吹打细胞，放入培养箱消化细胞，根据细胞特性决定消化时间（TM3、TM4、293 系列约 1~2 分钟）；
注：部分细胞不能使用胰酶消化，请注意查看细胞说明书；单颗漂浮的细胞不需要胰酶处理。
4. 消化好后，用移液枪轻轻吹打细胞悬液，使细胞团分散，迅速加入 3-5mL 含血清的培养基混匀以终止消化，离心（1200rpm，3min）去除胰酶；
5. 加入 5mL 左右的细胞相应的完全培养基混匀，按比例接入无菌培养瓶/皿中；
6. 显微镜下观察细胞是否成均匀分散的单细胞，若有 3-5 个成团的小细胞团可不用重新消化，使之贴壁后待细胞生长稳定后再次传代分散细胞。

