

RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞白血病细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CLM004
背景描述	此细胞株源自 Abelson 鼠科白血病病毒诱导的肿瘤。sIg-, 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。
细胞形态	不规则圆形, 纺锤状, 贴壁细胞, 少量悬浮。
规格	>1x10 ⁶ 细胞数量, T25 瓶或者 1mL 冻存管包装。
细胞来源	鼠科白血病病毒诱导的肿瘤; 单核细胞; 巨噬细胞。
培养基	DMEM 高糖 + 10% FBS + 1% P/S。
培养条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%; 温度: 37℃; 培养箱湿度为 70%-80%。
消化时间	用细胞刮轻轻刮下细胞 (或者培养基变黄后把细胞吹打下来)。 不能使用胰酶进行消化。
传代比例	1:2-1:5; 第一次收到细胞建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。
换液频率	2-3 次/周。
细胞冻存液	90%血清, 10%DMSO, 现用现配。(或商品化专用细胞冻存液)

二、细胞收到后处理方式

- 收到细胞后, 75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h, 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。
- 请在 4 或 5×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。
- 悬浮细胞: T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h, 显微镜下观察细胞的情况, 若细胞密度在 60%以下, 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。
- 贴壁细胞: 细胞在 37℃ 培养箱中放置 2-3h, 显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况, 有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60%以下, 可去除培养瓶中灌液培养基 (若有未贴壁的细胞需要离心回收, 重悬打入到原培养瓶中), 加入新配制的完全培养基 6-8mL, 放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80%以上, 可以对细胞进行传代处理。传代过程中, 若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

5、备注: 运输用的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。

三、细胞复苏

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。

四、细胞传代

- 1、细胞密度达到 80-90%左右时，吸去旧培养基留存 2mL 左右培养基，用细胞刮轻轻刮下细胞（或者培养基变黄后把细胞吹打下来），然后用枪头轻轻吹匀，首次传代比例为 1: 2，第二天观察，基本可以长满，后续传代按照 1: 3-1: 5 左右进行传代，2 天左右传代一次，不能传代太稀，不能让细胞长爆满。
- 2、收到细胞后传代两次后请务必冻存一批细胞，后续看情况必须冻存够 10 支左右细胞，RAW264.7 即使按照这个方法培养，传代 20-30 次后也会出现分化，当显微镜下观察一个细胞出现 3 个以上触角，出现触角的细胞达到 50 号以上，细胞即不能继续使用。

五、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。用配制好的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℃ 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。

六、运输和保存

- 1、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。
- 2、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。
- 3、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。

七、注意事项

1. 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。
2. 该细胞传代时不需要用胰酶消化。传代时，用无菌细胞刮刮拭培养表面将细胞刮落，收集离心后重悬接种到新的培养瓶中。
3. 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。
4. 血清质量差异可能引起细胞贴壁能力变化，应选用高质量的胎牛血清。
5. 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。
6. 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。