

RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞白血病细胞

一、细胞基本属性	
细胞名称	RAW 264.7小鼠单核巨噬细胞白血病细胞
细胞别称	RAW 264.7
商品货号	HC066
种属来源	小鼠, 雄; 成年
细胞来源	Abelson鼠科白血病病毒诱导的肿瘤; 单核细胞; 巨噬细胞
组织来源	肝脏
生长特性	贴壁生长
细胞形态	单核细胞, 巨噬细胞, 不规则圆形
细胞简介	RAW264.7细胞株源自Abelson鼠科白血病病毒诱导的肿瘤。slg-, 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。
生物安全等级	1
细胞规格	1 × 10 ⁶ cells/T25培养瓶或者1mL冻存管包装
支原体检测	无
培养基	DMEM+10%FBS+1%PS
培养条件	气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37°C
冻存条件	无血清冻存液, 液氮储存
细胞接收后的处理	<p>1) 收到细胞后, 75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于室温放置约1h, 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。</p> <p>2) 请在4或5X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。</p> <p>3) 贴壁细胞: 细胞在室温中放置1h, 显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况。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。</p> <p>4) 备注: 运输用的培养基 (灌液培养基) 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。</p>

二、细细胞处处理

1) 复苏细胞: 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8mL完全培养基的离心管中混合均匀。在1000RPM条件下离心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。

对于贴壁细胞传代可以参考以下方法:

弃去细胞培养基, 加入10mL细胞完全培养基, 使用移液管吹打细胞(少于20次), 收集吹落的细胞, 转移到离心管中在1000RPM条件下离心5min, 弃去上清液, 补加1-2mL培养液后吹匀。将细胞悬液按1: 2的比例分到新T25瓶中, 添加6-8mL 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。

三、培养注意事项:

①细胞出现问题, 予以重发情况:

1. 细胞运输途中遭遇的各种问题, 细胞丢失、瓶身破损、培养液严重漏液等, 重发;
2. 细胞污染问题, 请在收到产品3天内, 给我们提出真实的实验结果, 核实后重发;
3. 常温发货的细胞静置2小时后, 干冰冻存发货的细胞复苏后2天后, 绝大多数细胞未存活, (需提供真实清晰的细胞状态照片), 重发;
4. 干冰冻存发货的细胞复苏后2天后或常温发货的细胞静置2小时并且未开封, 出现污染, 重发;
5. 细胞活性问题, 请在收到产品7天内给我们提出真实的实验结果, 用台盼蓝染色法鉴定细胞活力, 和每天的细胞照片, 核实后予重发;
6. 细胞收到当天以及第2, 3 天请拍照, 3天未告知的, 视为产品合格。4-7天内出现问题需提供收到细胞前3天照片和细胞出现问题的照片以及细胞相关操作的详细步骤, 并跟技术人员沟通的, 由技术人员判定为我方责任的, 重发。

②细胞出现问题，不予以重发的情况：

1. 客户操作造成细胞污染，不重发；
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发；
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发；
4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前3 天的细胞状态照片，不重发；
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发；
6. 收到细胞并发现问题与客服人员沟通的时间证明大于7 天的，不重发；
7. 视具体情况而定。

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。

