



RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞白血病细胞

使用说明书

售前须知	1.该细胞不建议使用胰酶消化，胰酶会刺激分化； 2.超过3天不传代细胞容易分化； 3.培养时，存在少量分化细胞，属于正常现象。
细胞名称	RAW 264.7 小鼠单核巨噬细胞白血病细胞
货号 NO.	PE101006
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。在本库通过支原体检测。
种属	小鼠
组织来源	Abelson 鼠 科白血病病毒诱导的肿瘤
形态	单核细胞/巨噬细胞
培养特性	贴壁
传代比例	建议首次传代 1:2 1:3 建议尽量保种靠前代次细胞，后期传代比例请根据具体细胞生长情况调整。
安全性	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	推荐自配培养基：DMEM 高糖+10%胎牛血清+1%双抗 (该细胞比较特殊难培养强烈建议使用专用培养基) 温度：37°C 气相：95%空气，5%二氧化碳



细胞复苏

注意:1.低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37℃的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。

2.提前室温预热培养基。

- 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℃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), 松开瓶盖, 以便气体交换。
- 6.将培养瓶放入 CO₂培养箱中培养。该细胞传代时不需要用胰酶消化。传代时, 吸走部分培养液, 留下少许培养液(如 T25培 养瓶留下 7-8ml), 用无菌细胞刮刮拭培养表面将细胞刮落, 吹打后接种到新的装有新鲜培养液的培养瓶内。
- 7.该株巨噬细胞形态上包含松散贴壁的纺锤形和圆形或者立方形的细胞。当细胞密度较大时, 细胞会轻微脱落变圆或者许多细胞堆在一起, 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, 细胞沉淀可以继续培养
- 8.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。

传代

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, 待细胞恢复基本生长状态后, 进行后续操作。在倒置显微镜下观察整个细胞状态:

(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, 吸去剩余培养液, 只留 6-8ml 培养液继续培养。如发现贴壁细胞有脱落, 可离心收集。

(二)细胞已长满(达 90-100%), 即可进行传代, 具体步骤如下:

- 1.吸出上清后(上清中细胞也要收集, 这些漂浮的细胞是存活的), 用 pbs 洗 1 遍, 加入 7-8ml 完全培养基, 用无菌细胞刮刮拭培养表面将细胞刮落, 轻轻吹打后接种到新的装有新鲜培养液的培养瓶内。首次传代建议 1: 2-1:3;
- 2.此细胞消耗培养基较快注意观察培养基颜色, 保证细胞营养充足。

注意:

- 1.建议细胞密度较大时再进行传代。当细胞密度较大时, 细胞会出现变圆脱落或者堆在一起的现象。有些细胞甚至脱落漂浮, 这些漂浮的细胞是存活的, 在传代时可收集上清继续培养, 第二天换液即可。
- 2.优先拍打, 消化次之。如果可直接拍下大部分细胞, 可舍弃消化步骤。
- 3.强烈推荐使用本公司对应的培养基, 减少细胞培养过程的变因。
- 4.培养条件、运输、环境变化等因素会影响此细胞的状态, 因此收到细胞后需要调整一段时间, 请耐心培养。



保存	冻存条件：无血清细胞冻存液 保存条件：液氮存储
供应限制	仅供研究之用
常见问题及解决方案	<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） 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>
细胞株培养扩增 技术服务申明	本公司受贵单位委托，进行细胞株的技术服务工作，并收取相应细胞株技术服务费 细胞株技术服务具体项目清单见订购合同。本公司提供完善的技术支持及售后服务，收到产品后处理方式及相应售后条款参见《细胞售后条例》。
