

CTLL-2 小鼠 T 淋巴细胞

产品基本信息

细胞名称: CTLL-2 , 小鼠 T 淋巴细胞

种属来源: 小鼠

组织来源: T 细胞

细胞形态: 淋巴母细胞样

生长特性: 悬浮生长

培养基: RPMI-1640+10% FBS + 100 U/mL recombinant IL-2+1.0 µg/mL Con A + 1% P/S

生长条件: 气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37℃

传代方法: 1:2 至 1:3, 每周 2-3 次

冻存条件: 无血清冻存液, 液氮储存

支原体检测: 无

注意: 1、该细胞复苏第一、二天死亡下降到 10%正常, 一般第四天恢复。

2、细胞一三五传代, 按 0.02M/ml-0.02M/ml-0.015M/ml 铺瓶

3、需及时传代, 密度超过 0.5M/ml, 24H 后细胞大量死亡

4、最高养 4 个月, 约传代 50 次

5、冻存密度应达到 6-10M/管

细胞培养操作

1) 复苏细胞: 将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻, 加 4 mL 20%FBS 含 200IU IL2 的培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3-5 min, 弃去上清液, 加 1-2 mL 培养基后轻轻吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜 (或将细胞悬液加入 6 cm 皿中, 加入约 4 mL 培养基, 培养过夜)。第二天换液 (培养基补足到 10ml, 加入 100IU IL2) 并检查细胞密度。

2) 细胞传代: 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

收集细胞, 1000RPM 条件下离心 3-5min 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2ml 培养液后吹匀, 将细胞悬液按 0.02M/ml 的密度分到含新培养基的新皿中或者瓶中。

在 IL2 充分的情况下, 细胞生长旺盛, 隔天细胞数翻 10 倍以上, 需及时传代, 密度超过 0.5M/ml, 24H 后细胞大量死亡。

3) 细胞冻存: 待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例;

a、收集细胞及细胞培养液, 装入无菌离心管中, 1000 rpm 条件下离心 4 min, 弃去上清液, 用 PBS 清洗一遍, 弃尽 PBS, 然后进行细胞计数。

b、根据细胞数量对应加入无血清细胞冻存液, 使细胞密度 6-10M/管, 轻轻混匀, 每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液, 注意冻存管做好标识。

c、将冻存管放入 -80℃ 冰箱, 24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

培养注意事项

1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，若有上述现象发生请及时和我们联系。
2. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致，若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。
3. 用 75%酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态。因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃培养箱放置 4-6h。
4. 贴壁细胞可以消化，悬浮细胞直接混匀收集细胞，900 rpm-1000 rpm 离心 3 min，弃上清。加 5 mL PBS 重悬细胞，再 900 rpm-1000 rpm 离心 3 min，用新鲜的完全培养基重悬细胞，并接种到新的培养瓶或培养皿中，置于培养箱中进行培养。
5. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养。
6. 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和我司技术部沟通交流。由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
7. 该细胞仅供科研使用。
8. 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。

悬浮细胞收货注意事项：

- 1、收货时需镜下拍照（看密度、状态）
- 2、静置后需镜下拍照（看整体密度）
 - a. 如密度 50%以下，建议换液并竖瓶培养
 - b. 如密度 50%-80%，建议换液培养，隔天观察密度
 - c. 如密度 90%，建议传代
- 3、换液及传代处理前，培养瓶竖着放置至少半小时（使细胞沉到瓶底）；收集上清，必须将瓶内所有培养基（70ml）全部收集！并用 PBS（10ml）润洗瓶底并收集！离心转速为 1000rpm，3-5min。