RAW 264.7 细胞使用说明书

产品基本信息

产品货号	YC-C020		
细胞名称	RAW 264.7	中文名称	经白血病病毒转化的小鼠巨噬细胞
细胞形态	单核细胞样, 贴壁细胞	传代比例	1:2-1:3
培养体系	90%DMEM+10%FBS 源井细胞培养未加双抗，客户可视实际情况选择添加		
冻存液体系	50%DMEM+40% FBS+10%DMSO		
特殊备注	不能用胰酶消化，要用单道移液器轻柔将细胞吹成单个细胞。		

注意：如收到为活细胞，原瓶罐装培养基仅含 5%血清，需额外补充血清或更换新的完全培养基进行培养。

STR 鉴定

Loci	送检细胞 STR 信息 送检细胞名：RAW 264.7				细胞库细胞 STR 信息 细胞库细胞名：RAW 264.7		
	Allele1	Allele2	Allele3	Allele4	Allele1	Allele2	Allele3
18-3	18.0				18.0		
4-2	22.3				22.3		
6-7	12.0				12.0		
19-2							
1-2	17.0						
7-1	25.2				25.2		
8-1	13.0				13.0		
1-1					15.0	16.0	
3-2	14.0				14.0		

2-1	16.0				16.0		
15-3	22.3				22.3		
6-4	18.0				18.0		
13-1	16.2				16.2		
11-2	17.0				17.0		
17-2	14.0	16.0			14.0	16.0	
12-1	16.0				16.0		
5-5	14.0				14.0		
X-1	24.0				24.0		
TH01							
D5S818							

* 该细胞系与收录于 ATCC, DSMZ, JCRB 和 RIKEN 数据库的细胞系 STR 数据匹配。

结论：该细胞 STR 鉴定正确。

细胞接收

1) 冻存细胞：如果是干冰运输的冻存细胞，收到后请立即转入液氮储存或短暂（24H)放至-80℃冰箱保存，或直接进行细胞复苏。

2) 活细胞：如果是 T25 瓶活细胞运输，收到后用 75%的酒精对 T25 瓶外表面进行消毒，之后放在 5%CO2、37℃的细胞培养箱静置 2h，静置后取出细胞瓶在显微镜下观察细胞贴壁情况和细胞汇合度，分别在 100X 和 40X 下各拍 2 个不同视野的细胞拍照记录。如果汇合度达到 80%以上的传代密度，可以进行传代操作，如果细胞汇合度没有达 80%以上不够传代，弃掉瓶内培养基，更换新鲜完全培养基。（灌满细胞培养基不能正常用来培养细胞。）

注意：收到细胞后，活细胞首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否漏液、浑浊等现象。冻存细胞若发现干冰已挥发完、冻存管瓶盖脱落、破损等异常情况，请务必**拍照保留**，并于收货 24h 内与我们联系（电话：400-688-9033；https://www.ubigene.com）。

细胞复苏

1) 准备工作：将完全培养液置 37℃水浴锅预热 30 分钟，随后将冻存的细胞从液氮中取出，转移到-80℃冰箱，放置数分钟让残余液氮挥发；

2) 在超净台内用吸管吸取 6-7 mL 完全培养液至 15 mL 离心管中；

3) 将细胞从-80℃冰箱取出暂时放置于干冰里，复苏时稍稍甩动，去除残留的干冰和液氮，再迅速用镊子夹住盖子放入 37℃水浴中快速晃动（注意：水不能没过盖子），使其在 1 分钟左右完全融化；

4) 在超净台内，用酒精棉球擦拭冻存管外壁消毒，稍稍晾干。用单道移液器将所有融化的细胞悬液转至提前准备好的完全培养液中，盖上盖子，1100 rpm 室温离心 4 分钟收集细胞；

5) 超净台内小心吸弃上清，用单道移液器吸取 1 mL 新鲜完全培养液重悬细胞至单细胞悬液，再转移至装有 4 mL 完全培养液的 T25 cm^2 培养瓶（或者 6cm 的皿）中，写上细胞名称、复苏日期、代次，放置 37℃、5% CO2 饱和湿度培养箱内培养。

注意：请勿直接复苏到 T75 cm^2 瓶或 10cm 的皿。

细胞传代

1) 该细胞要每天都传代，传代时在超净台内用单道移液器将细胞轻柔吹成单个细胞（一定要在显微镜下看到细胞全部吹散）。

2) 将细胞悬液转移到一支 15mL 离心管或者 50 mL 离心管中，同一批次的细胞可以合并收集在一起，盖上盖子，做好标记；

3) 1100 rpm 室温离心 4 分钟，离心后，打开盖子弃上清，加 2mL 完全培养基重悬细胞；

4) 细胞按照一定的接种比例传代，首次按照 1：2 进行传代。

细胞冻存

1) 按细胞传代的方法，在超净台内把培养瓶里的细胞吹散至单细胞悬液。所有液体转移到一支 50 mL 离心管中。

2) 用移液管吹打混合均匀，取 20 μL 进行细胞计数；

3) 1100 rpm 室温离心 4 分钟，离心后，打开盖子倒去上清，用 1~2 mL 4℃预冷的冻存液重悬细胞，随后加入冻存液调整至密度为 $1x10^6$-$1x10^7$ 个细胞/mL。

4) 将细胞悬液按 1 mL/管平均分装至冻存管中，旋紧盖子，冻存管应提前贴好细胞名称、细胞代次、数量、冻存日期；

5) 将冻存管放置于 4℃预冷的程序降温盒中，并在冻存结束的 15 分钟之内将程序降温盒放置超低温冰箱内；

6) 过夜后，将冻存细胞转移至液氮罐内保存。