

细胞产品手册

OriCell[®] J774A.1

小鼠单核巨噬细胞系

产品货号: M3-1201



产品介绍

小鼠单核巨噬细胞系（J774A.1）于1968年从患有网状细胞肉瘤的成年雌性 BABL/cN 小鼠腹水中分离出的细胞系，该细胞有抗体依赖的吞噬作用，生长受硫酸葡聚糖、PPD 和 LPS 的抑制，可产生 IL-1 β 和大量的溶菌酶。

小鼠单核巨噬细胞系（J774A.1）主要应用于免疫学领域，探究巨噬细胞免疫应答、抗原呈递等机制，了解巨噬细胞抗感染过程、筛选抗感染药，如如草苈蓉多糖抑制巨噬细胞炎症小体活化及细胞焦亡机制研究等。

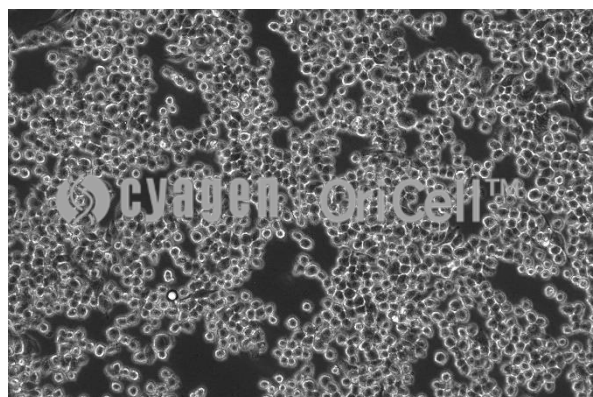
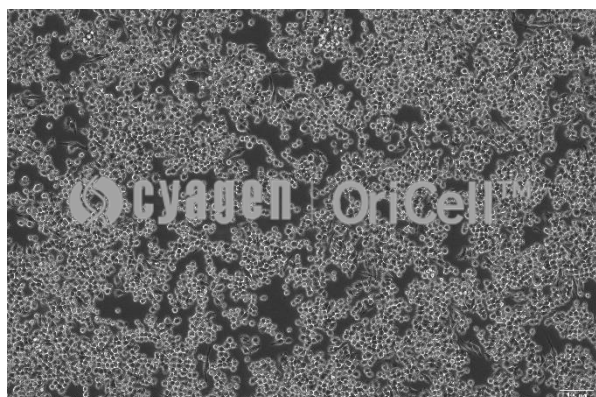
注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

产品信息

产品名称	小鼠单核巨噬细胞系
简称	J774A.1
别称	J-774A.1、J774.A1、J774 A1、J774A.1、J 774A.1、J774 A.1
货号	M3-1201
规格	1 $\times$ 10 ⁶ 个/管或 1 $\times$ 10 ⁶ 个/瓶
组织来源	小鼠腹水
细胞特性	贴壁生长；单核细胞/巨噬细胞样
培养条件	95% 空气；5%CO ₂ ；37°C
培养基	DMEM+10%FBS
倍增时间	24-48 h
生物安全等级	1
保存条件	液氮（-196°C）
注意事项	请勿使用胰酶消化传代、建议使用培养皿、高品质血清培养

注意：本产品在生产过程中严格控制无菌。后续培养请根据实际情况选择是否添加抗生素。

OriCell® J774A.1 细胞系在倒置相差显微镜下的形态



质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测。
- 通过 STR 检测。

详情见《产品检测报告》。

处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合贴壁细胞生长的培养容器，且不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。

注意：本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。

本产品说明书中使用的试剂简写规则如下：

简写	名称	货号
FBS	Fetal Bovine Serum 胎牛血清	参考官网信息
BCS	Bovine Calf Serum 小牛血清	SBCST-01001
Glu	Glutamine 谷氨酰胺	SGLU-10201
SP	Sodium Pyruvate 丙酮酸钠	SCSP-10301
Dex	Dexamethasone 地塞米松	SDEX-10401
NBCS	Newborn Calf Serum 新生牛血清	NCSST-01001
HS	Horse Serum 马血清	SCHST-01001
NEAA	Non Essential Amino Acid 非必须氨基酸	NEAA-10201
β-mer	β-mercaptoethanol β-巯基乙醇	BMER-10301
P/S	Penicillin- Streptomycin 青霉素-链霉素（双抗）	ATPS-10001
ITS	Insulin、Transferrin、Selenite 胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸添加物	ITSS-10201

细胞的复苏和培养

所需材料

- OriCell® J774A.1 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基

注意：收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80℃冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80℃，让管中液氮挥发。

操作步骤

1. 水浴锅 37℃预热。
2. 完全培养基温浴到 37℃。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80℃冰箱中取出细胞，放入 37℃水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

注意：1) 融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；

2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染；

3) 管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。

5. 用 75%医用酒精擦拭冻存管外表面。
 6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
 7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
 8. 细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
- 注意：**请以公式 $a=\omega^2r$ (a :向心加速度； ω :旋转角速度， $\omega=\pi n/30$ ； r :转子半径) 计算相应转速。
9. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
 10. 将细胞接种到 1 个 6 cm 培养皿或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基，1 个 6 cm 培养皿中培养基总量不少于 4 mL。

注意：该细胞建议使用培养皿复苏、传代、培养，分化较少且易于传代处理。

11. 摇匀细胞，放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。

注意：接种 2 h 内不可移动、观察细胞。这会严重影响细胞贴壁，造成状态不佳、细胞聚团、贴壁不均匀等情况。

12. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基或传代。

注意：若发现大量漂浮细胞或其他异常情况，应及时排查原因，并与我们联系。

13. 之后，每 3 天更换一次完全培养基，直到细胞汇合度至 85%以上，即需传代。

常温细胞接收处理

所需材料

- OriCell® J774A.1 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基
- 75%医用酒精
- 数个无菌的 EP 管

注意：1) 收到常温运输的细胞，取出细胞培养瓶后请仔细核对标签信息；

2) 检查培养基是否浑浊；

3) 瓶身有无裂痕；

4) 瓶口有无培养基渗漏。

如有任何异常情况，请及时与我们联系。

操作步骤

1. 用 75%医用酒精全面喷洒擦拭细胞培养瓶，转移入超净工作台。
2. 去除瓶口封口膜，再用蘸有 75%医用酒精的洁净无纺布擦拭瓶口。
3. 镜下观察细胞，检查细胞是否出现大面积脱落，或大量死细胞。
4. 若一切正常，请将细胞培养瓶放入 CO₂ 培养箱内，静置至少 2 h，使运输过程中脱落的细胞重新贴壁。
5. 从培养箱中取出细胞，镜下检查有无异常。
6. 若无异常，在超净工作台中打开培养瓶，吸取至少 2 份 1 mL 培养基至无菌的 EP 管中，妥善保存，以备检测。

注意：留样的细胞培养基请放置 4℃冰箱保存。若细胞短期内出现污染，请取其中 1 份做微生物检测；若直到细胞第二次传代没有任何异常，则可丢弃样品。

7. 弃去多余的培养基，1 个 T25 培养瓶中保留 5-10 mL 培养基即可。
8. 将细胞放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
9. 每 3 天更换一次新鲜的培养基，直到细胞汇合度至 85%以上，即需传代。

细胞的传代

所需材料

- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001, 以下简称 PBS)
- 适宜细胞生长的完全培养基

操作步骤

1. 传代时使用吸管或移液管吸弃部分细胞培养上清, 留少许培养上清在细胞培养瓶或皿中, 方便吹打即可。(如 6 cm 培养皿只留 2~3 mL 上清)。

注意: 若镜下观察有大量悬浮细胞存在, 需将上清全部收集和吹打后的细胞一起离心, 避免损失。

2. 使用 1 mL 一次性枪头或移液管吸取培养上清, 直接吹打培养容器底面数次。

注意: 吹打动作不可剧烈, 避免产生大量气泡, 可能损伤细胞, 已分化且吹不下来的细胞果断丢弃。

3. 将细胞悬液转移至 15 mL 离心管中。
4. 用 PBS (6 cm 培养皿加入约 3 mL, 10 cm 培养皿加入约 6 mL) 洗涤培养容器次, 收集残留细胞。
5. 收集的所有细胞悬液以 250×g 离心 4 min。
6. 离心后去除上清。
7. 15 mL 离心管中加入 2 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
8. 将细胞按(4~6) ×10⁴ 个活细胞/cm² 接种至适宜的培养容器内。

注意: 我们建议有条件且计数效率较高的情况下, 进行手工计数, 以期获得精准的细胞浓度指导接种; 在没有精确计数条件的情况下, 按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell® J774A.1 细胞传代比例为 1:3~1:4, 72 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际情况调整传代比例。

9. 摇匀细胞, 放入 37°C、5%CO₂、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中。
10. 传代次日, 观察细胞状态。若发现较多漂浮且状态不佳细胞, 应予以换液。
11. 每 3 天更换一次新鲜的培养基, 待细胞汇合度至 85%以上, 即需传代或冻存。

细胞的冻存

所需材料

- OriCell® 通用无蛋白非程序冻存液（货号：NCPF-10001）
- OriCell® 通用血清型非程序冻存液（货号：NCRC-10001）

操作步骤

1. 待细胞生长至可传代的密度，即可准备冻存。
2. 细胞消化请参考 OriCell® J774A.1 细胞的传代操作步骤 1~9。
3. 离心后去除上清，用适量冻存液均匀重悬细胞。
4. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。

注意：在没有成熟的计数条件下，我们建议将细胞按比例分装冻存即可，长时间在非培养条件下放置会严重影响细胞的状态。在计数时，我们建议将细胞放置于 4℃冰箱内，以减弱细胞代谢，较好地保持细胞状态。

5. 若选用 OriCell®非程序冻存液，可将冻存管直接分散放入-80℃冰箱中。

注意：细胞冻存期间，特别是开始冻存的 4 h 内，不可打开冰箱门，这将严重影响细胞冷冻存活率。

6. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。

注意：细胞不可长期保存在-80℃冰箱中。我们建议在-80℃冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

赛业（广州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业（广州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，

不得改编或转载用作其他商业用途。