

# 细胞产品手册

OriCell®EL4 小鼠淋巴瘤细胞系

产品货号: M5-0501





#### 产品介绍

小鼠淋巴瘤细胞系(EL4)是从用9,10-二甲基-1,2-苯并蒽在C57BL小鼠中诱导的淋巴瘤中分离出。能抗 0.1 mM 氢化可的松,对 20 mcg/ml PHA 敏感。其亚株(EL4.IL-2)可以生成高水平的 IL-2。

EL4 细胞系常用于淋巴瘤的研究,如淋巴瘤动物模型建立、药物在该细胞中作用效果研究等。

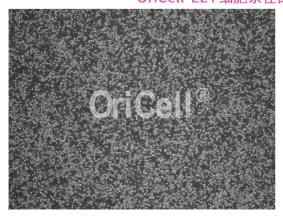
注意:本产品仅提供给进一步科研使用,不可用于临床治疗等其他用途。

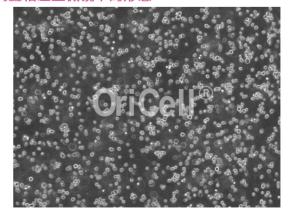
# 产品信息

产品名称	小鼠淋巴瘤细胞系
简称	EL4
货号	M5-0501
规格	1×10 <sup>6</sup> 个/管 或 1×10 <sup>6</sup> 个/瓶
组织来源	小鼠淋巴
细胞特性	淋巴母细胞样;悬浮生长
培养条件	95% 空气;5% CO₂;37°C
培养基	DMEM+10%FBS
倍增时间	12~24 h
生物安全等级	1
保存条件	液氮(-196°C)

注意:本产品在生产过程中严格控制无菌。在后续培养过程中,请根据实际情况决定是否在培养基中添加抗生素。

OriCell® EL4 细胞系在倒置相差显微镜下的形态





- 赛业(广州)生物科技有限公司





#### 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,复苏存活率>90%。
- 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。本产品需使用适合悬浮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:

FBS: Fetal Bovine Serum 胎牛血清

NBCS: Newborn Calf Serum 新生牛血清

BCS: Bovine Calf Serum 小牛血清

HS: Horse Serum 马血清 Glu: Glutamine 谷氨酰胺

ITS: Insulin、Transferrin、Selenite 胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸添加物

NEAA: Non Essential Amino Acid 非必须氨基酸

SP: Sodium Pyruvate 丙酮酸钠

**β-mer:** β-mercaptoethanol β-巯基乙醇

Dex: Dexamethasone 地塞米松

P/S: Penicillin- Streptomycin 青霉素-链霉素(双抗)



#### 细胞的复苏和培养

#### 所需材料

- OriCell®EL4 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基

#### 操作步骤

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。

- 1. 水浴锅 37°C预热。
- 2. 完全培养基温浴到 37°C。
- 3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
- 4. 从-80°C冰箱中取出细胞,放入37°C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 140×g 离心 5 min。

注意:请以公式  $a=\omega^2r$ (a:向心加速度; $\omega$ :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 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基,1 个 T25 培养瓶中

一 赛业(广州)生物科技有限公司



培养基总量不少于 5 mL。

- 11. 摇匀细胞,放入 37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub>培养箱中。
- 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。
- 13. 之后,每3天更换一次完全培养基,直到细胞汇合度至合适密度。



# 常温细胞接收处理

# 所需材料

- OriCell®EL4 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
- 两个无菌的 50 mL 离心管

注意: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;检查培养基是否浑浊;瓶身有无 裂痕;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,检查是否出现大量死细胞。
- 4. 若无异常,在超净工作台中打开培养瓶,将细胞悬液均分,转移到两个 50 mL 离心管内。
- 5. 细胞悬液以 140×g 离心 5 min。

注意:请以公式  $a=ω^2r$ (a:向心加速度;ω:旋转角速度,ω= $\pi$ n/30;r:转子半径)计算相应转速。

6. 吸取至少 2 份 1 mL 离心上清至无菌的 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. 弃去多余的离心上清,加入 2 mL 完全培养基,轻柔吹打细胞沉淀,充分吹散、混匀。
- 8. 将细胞按  $1.0~2.0\times10^5$  cells/mL 的密度接种到培养器皿中,加入足量的完全培养基。



- 9. 摇匀细胞,将放入 37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub>培养箱中。
- 10. 之后,每3天更换一次完全培养基,直到细胞汇合度至合适密度。



## 细胞的换液

## 所需材料

● 适宜细胞生长的完全培养基

#### 操作步骤

注意:为避免反复温热培养基,如果在一次操作中无法用完整瓶培养基,建议分装到适当的无 菌容器中。换液时只取当天所需培养基量进行预热。

- 1. 镜下观察细胞,如果出现较多的死细胞或分泌物,需及时换液。
- 2. 用巴氏吸管将细胞悬液转移至离心管中。
- 3. 降低离心力为 140×g,将细胞悬液离心 4 min 后,去除上清液。
- 4. 向细胞沉淀物加入 1 mL 完全培养基,轻轻重悬细胞。
- 5. 将细胞悬液移入一个新的培养器皿中。
- 6. 加足量的培养液,在 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中培养。
- 7. 之后,视培养液情况和细胞的生长情况,予以换液或传代。一般隔天换液。

# 传代时机判断

一般情况下,小鼠淋巴瘤细胞(EL4)在培养2-3天后进行传代。



## 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. 将完全培养基预热至 37℃。
- 2. 用巴氏吸管将细胞悬液转移至离心管。用 PBS(T25 培养瓶加入约 3 mL,T75 培养瓶加入约 6 mL)洗涤容器 1 次,收集残留细胞。
- 3. 收集的所有细胞悬液以 140×g 离心 5 min。
- 4. 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。
- 5. 将细胞按(2~3) ×10<sup>4</sup>个活细胞/cm<sup>2</sup>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<sup>®</sup> EL4 细胞传代比例为 1:2~1:4,48 h 内生长至可传代密度。请根据细胞实际情况调整传代比例。

- 6. 摇匀细胞,放入37°C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中。
- 7. 传代次日,观察细胞状态。给传代的细胞换用新鲜的完全培养基(已预热到 37°C)。
- 8. 每3天更换一次新鲜的培养基,待细胞密度至95%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®通用血清型程序冻存液(货号: CYRO-10001)

#### 操作步骤

- 1. 若选用 OriCell<sup>®</sup>通用血清型程序冻存液,请在操作前将程序降温盒放入 4°C冰箱内预冷。
- 2. 待细胞生长至可传代的密度,即可准备冻存。
- 3. 细胞消化请参考 OriCell®EL4 细胞的传代操作步骤 1~5。
- 4. 离心后去除上清,用适量冻存液均匀重悬细胞。
- 5. 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°C冰箱内,以减弱细胞代谢,较好地保持细胞状态。

6. 若选用 OriCell®通用血清型程序冻存液,将冻存管放入预冷的程序降温盒中,再将程序降温盒放入-80℃ 冰箱中。若选用 OriCell®通用无蛋白非程序冻存液,请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4h内,不可打开冰箱门,这将严重影响细胞冷冻存活率。

7. 8h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°C冰箱中。我们建议在-80°C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。