

# 细胞产品手册

## OriCell® MC/CAR 人外周血淋巴细胞系

产品货号：H3-4201



## 产品介绍

人外周血淋巴细胞系（MC/CAR）是从一名患有浆细胞瘤的 81 岁成年白人男性的外周血中分离出来的淋巴母细胞样细胞系，该细胞可用于免疫系统疾病的研究，并可作为人类融合细胞系使用。

人外周血淋巴细胞系（MC/CAR）被广泛应用于抗体生产和基因功能研究领域，常作为生产重组抗体或分泌型蛋白的哺乳细胞表达工具，也用于 B 细胞信号转导等相关基础研究。

**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。

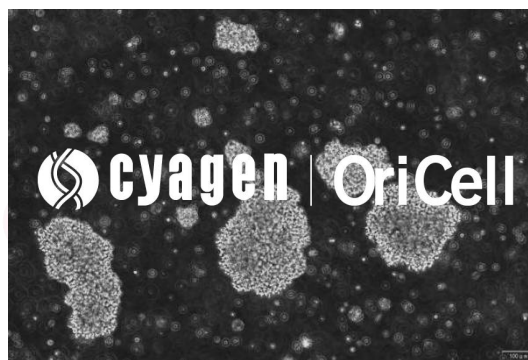
**使用本细胞发表的文献需注明：** (OriCell, Cat. No. H3-4201) from Cyagen.

## 产品信息

|        |                                          |
|--------|------------------------------------------|
| 产品名称   | 人外周血淋巴细胞系                                |
| 简称     | MC/CAR                                   |
| 别称     | MC-CAR、MCCAR                             |
| 货号     | H3-4201                                  |
| 规格     | $1 \times 10^6$ 个/管或 $1 \times 10^6$ 个/瓶 |
| 组织来源   | 人外周血                                     |
| 细胞特性   | 悬浮生长；淋巴母细胞样                              |
| 培养条件   | 95% 空气；5% CO <sub>2</sub> ；37°C          |
| 培养基    | IMDM+20% FBS                             |
| 倍增时间   | 24~48 h                                  |
| 生物安全等级 | 2                                        |
| 保存条件   | 液氮（-196°C）                               |
| 注意事项   | ——                                       |

**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® MC/CAR 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：

| 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® MC/CAR 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基（如 OriCell® MC/CAR 细胞系完培培养基）

**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 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，直到细胞生长至合适密度，即需传代。

## 常温细胞接收处理

### 所需材料

- OriCell® MC/CAR 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，请及时与业务经理联系。

### 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  $140\times g$  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。

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  $1.0\sim 2.0\times 10^5$  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，直到细胞生长至合适密度，即需传代。

## 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，如果有细胞出现贴壁，尽量不要拍打培养器皿底壁以免其脱壁。
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  $140\times g$ ，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  $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 、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，人外周血淋巴细胞MC/CAR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°C。
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。
8. 将细胞按  $(2\sim3)\times10^4$  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® MC/CAR 细胞传代比例为 1:2~1:3, 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。

5. 摇匀细胞, 放入 37°C、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中。
6. 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)。
7. 每 3 天更换一次新鲜的培养基, 待细胞生长至合适密度, 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. 细胞收集请参考 OriCell® MC/CAR 细胞的传代操作步骤 1~3。
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（苏州）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（苏州）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。