



## 小鼠骨髓瘤细胞 SP2/0（复苏状态）

货号	规格
BDXB-0001	25cm培养瓶

### 一、产品描述

背景：淋巴母细胞，HGPRT缺失，不生成免疫球蛋白

形态：悬浮（半贴壁）

培养基：RPMI-1640+15% FBS（博奥龙 BF08005），1×双抗（博奥龙 BDXB0008）

条件：37℃，5%CO<sub>2</sub>

接种密度：1×10<sup>5</sup> cells/mL

培养密度：5×10<sup>4</sup>-5×10<sup>5</sup> cells/mL（不要超过1×10<sup>6</sup> cells/mL）

冻存：FBS+10% DMSO

### 二、细胞接收后的注意事项

1. 细胞收到后建议在培养箱稳定1-2h后，再依据细胞密度，换液培养或传代。
2. 收到细胞后请勿丢弃原培养基，可离心收集上清中的悬浮细胞，以10ml完全培养基重悬收集到的细胞，放入新的细胞培养瓶/皿中培养过夜，根据细胞密度及生长情况分瓶传代。
3. SP2/0贴壁不牢，可使用弯头滴管等轻轻吹打收集，一般不需要胰酶消化。若选用胰酶消化收集，建议时间不超过半分钟，以降低对细胞的伤害。
4. 成簇生长：轻轻摇晃培养瓶，将团簇状细胞打散，继续培养或传代。
5. 为获得更好的融合率，建议定期用8-AG（8-氮鸟嘌呤）对SP2/0细胞进行复壮。
6. 培养基必须使用RPMI-1640。胎牛血清含量可以根据细胞状态进行调整。
7. **请注意全程无菌操作。**

### 三、操作规程（供参考）：

1. 收到细胞后，以75%酒精消毒瓶壁后，立即放置于37℃培养箱复温1-2h。

2. 收集原细胞培养基，仅留下约10mL并观察贴壁的细胞量（请注意拍照保存），根据以下三种情况判断当天是否需要处理：
  - a) 若细胞未贴壁，可1000rpm离心5min，收集全部原细胞培养基中的悬浮细胞，弃去上清，然后用10ml的15%FBS-1640重悬收集到的细胞，放入新的细胞培养瓶/皿中培养过夜。同时原瓶也补加新的培养基继续保存培养。
  - b) 若细胞贴壁，但密度较低（<80%），可继续培养观察
  - c) 若细胞贴壁且长满，可传代到10cm培养皿培养；同时准备一块24孔细胞培养板，每个细胞准备两个孔，每孔加入1ml的15%FBS-1640，从培养皿中吸取200ul细胞加入24孔板中培养，作为备份。
3. 其他常规培养操作：
  - a) 细胞传代：
    - 显微镜下观察细胞密度达到80%以上即可传代培养；
    - 吸走大部分培养基，剩余约2mL用于吹打收集细胞。SP2/0细胞使用弯头滴管等轻轻吹打即可收集，一般不需要胰酶消化；
    - 将细胞悬液收集至离心管中，1000rpm离心5min，于超净台中弃去上清；
    - 添加新的37℃预热好的10%FBS-1640培养基重悬细胞，平均分配到2-3个培养瓶/皿中，补足培养基至培养瓶/皿推荐体积继续培养。
  - b) 细胞冻存：
    - 参考细胞传代的方法收集健康的细胞
    - 用配置好的冻存液重悬细胞，每1ml冻存液重悬约 $1-5 \times 10^6$ 细胞。做好标记，包括细胞名称、冻存时间等关键信息。
    - 放入程序降温盒，或手动梯度降温，直至最终由-80℃冰箱转移至液氮长期保存。选用 **QuickFreezing哺乳动物细胞冻存液可省去程序降温流程。**



## 小鼠骨髓瘤细胞 SP2/0 (冻存状态)

货号	规格	储存
BDXB-0001	瓶	液氮

### 一、产品描述

背景：淋巴母细胞，HGPRT缺失，不生成免疫球蛋白

形态：悬浮（半贴壁）

培养基：RPMI-1640+15% FBS（博奥龙 BF08005），1×双抗（博奥龙 BDXB0008）

条件：37℃，5%CO<sub>2</sub>

接种密度：1×10<sup>5</sup> cells/mL

培养密度：5×10<sup>4</sup>-5×10<sup>5</sup> cells/mL（不要超过1×10<sup>6</sup> cells/mL）

冻存：FBS+10% DMSO

### 二、操作步骤

1. 收到细胞后放-80℃超低温冰箱待用。
2. 提前打开水浴锅，将细胞从超低温冰箱拿出后立刻置于37℃水浴锅中约1min，快速融化。
3. 融化后将细胞拿进超净台，将冻存管中的细胞取到15ml离心管中，再加约5ml空白1640培养基（稀释DMSO毒性）后1000rpm，离心5min。
4. 离心结束后，在超净台中倒掉上清，取2ml 15%FBS-1640培养基于离心管中轻轻重悬细胞后，全部取出至已加有4ml的15%FBS-1640培养基的10cm细胞培养皿中培养（此时一皿约6ml培养基，显微镜下观察细胞，并拍照保存）。
5. 复苏后第二天再观察细胞，如果死细胞偏多，但活细胞也贴壁了即可换液，即轻轻倒去培养皿中的液体，再加入约6ml新的15%FBS-1640培养基继续培养。观察三至四天，如细胞增殖即可分皿扩大培养，也可从复苏第二天换液后混匀细胞中取1ml细胞，加入新的培养皿中一起培养。
6. 待细胞长到占孔底>70%以上即可冻存。

备注：更多常规培养操作步骤，可参考SP2/0（复苏状态）说明书。



### 三、注意事项

1. 为获得更好融合率，建议定期用8-AG（8-氮鸟嘌呤）对SP2/0细胞进行复壮。
2. 培养基必须使用RPMI-1640。胎牛血清含量可以根据细胞状态进行调整。
3. **请注意全程无菌操作。**