

中国仓鼠卵巢细胞
(CTLA4 Ig-24)

细胞介绍

CHO 细胞以人 CTLA-4 基因细胞外结构域序列和人 IgCgamma1 的绞链区, CH2 和 CH#区序列的融合结构转染, 构建了这株细胞。它们表达融合蛋白(CTLA4Ig)。

细胞特性

- 1)) 来源: 中国仓鼠卵巢
- 2)) 形态: 可贴壁生长(上皮细胞样), 也可悬浮生长(圆球形)
- 3)) 含量: $>1 \times 10^6$ 个/mL
- 4)) 污染: 支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5)) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

运输和保存: 使用含有优质胎牛血清的 2ml 冻存管发送存活细胞。收到细胞后, 可在 1000RPM, 常温条件下, 离心 5min 后, 于洁净操作台弃去上清, 加入推荐使用的培养基后转移至 10cm 培养皿或者 T25 培养瓶中培养, 传代达到细胞生长状态良好时, 再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

细胞用途: 仅供科研使用。

细胞培养步骤

一· 培养基及培养冻存条件准备:

培养条件: 贴壁生长时, 选择 DMEM-H 培养基(DMEM-H:GIBCO, 货号 12800017, 添加 NaHCO_3 1.5g/L, 添加 0.2 mM 脯氨酸, 0.001 mM 氨甲蝶呤), 90%; 优质胎牛血清, 10%。

[MTX 是基因 DHFR 产物的抑制物。当培养基中存在 MTX 时, MTX 可渗入细胞内与 DHFR 蛋白结合, 使核苷酸的合成受阻。但是 DHFR 基因连同其附近几千 KB 的 DNA 还会扩增以满足核苷酸合成的需要。理论上 MTX 浓度越大, DHFR 基因扩增越多, 与 DHFR 基因连锁的目的蛋白基因也表达得越多]

悬浮培养时, 请使用悬浮生长专用培养基, 培养基为: EX-CELL CD-CHO CHO Serum-free Medium, Chemically Defined(Sigma-Aldrich, 货号: 24361C)

添加物:

L- 谷氨酰胺 (Sigma-Aldrich, 货号: G8540-25G)

Anti-Clumping Agent(Gibco, 货号: 01-0057AE)

备注: CD-CHO CHO Serum-free Medium 请按照培养基配制说明书配制, L-谷氨酰胺配制浓度为 200mM, 工作浓度为 8mM (即稀释 25 倍, 如 500ml CHO Serum-free

Medium 中添加 20ml 200mM L-谷氨酰胺, 抗结团剂使用为 1%, 即 500ml CHO Serum-free Medium 中添加 5ml 抗结团剂)

1) 培养条件: 气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。 温度: 37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。

2) 冻存液: 90%完全培养基(贴壁生长冻存时)或 90%悬浮培养基(悬浮生长时), 10%DMSO, 现用现配。液氮储存。

二· 细胞处理:

1) 复苏细胞: 将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加入 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜(或将细胞悬液加入 10cm 皿中, 加入约 8ml 培养基, 培养过夜)。第二天换液并检查细胞密度。

2) 细胞传代: 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
2. 加 2ml 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mM EDTA) 于培养瓶中，置于 37°C 培养箱中消化 1-2 分钟，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后加少量培养基终止消化。
3. 按 6-8ml/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。
4. 将细胞悬液按 1:2 到 1:5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法：

方法一：收集细胞，1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀，将细胞悬液按 1:2 到 1:5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

方法二：可选择半数换液方式，弃去半数培养基后，将剩余细胞悬起，将细胞悬液按 1:2 到 1:3 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

3) 细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，加入约 1ml 含血清的培养基后加入冻存管中，再添加 10%DMSO 后进行冻存。悬浮细胞冻存时，应将细胞收集，1000RPM 条件下离心 4 分钟，少量保存上清液（防止细胞吸走），加入部分新鲜培养基，加入到冻存管中，在冻存管中加入 10%DMSO 后进行冻存。

注意事项：

1. 收到细胞后，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。
2. 所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。