

小鼠成纤维细胞
(L-929)

细胞介绍

1948年三月建立了 NCTCclone929(小鼠结缔组织), 细胞系 L 的克隆。细胞系 L 是最早建立的连续培养细胞系之一, 而 clone 929 是最早的克隆株。从一只 100 日龄的雄性 C3H/An 小鼠的正常皮下疏松结缔组织入脂肪组织中建立了亲本细胞系 L。第 95 代的细胞系 L 使用毛细管法分离单细胞建立了 clone929。检测发现 鼠痘病毒阴性。

细胞特性

- 1) **来源**: 组织: 皮下结缔组织; 疏松结缔组织及脂肪品系: C3H/An
- 2) **形态**: 成纤维细胞
- 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: 可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式: (1)干冰运输, 收到后 立即转入液氮冻存或直接复苏; (2)存活细胞, 收到后应继续生长, 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

- 1) **培养基及培养冻存条件准备**:
 1. 准备 MEM 培养基(MEM:GIBCO, 货号 11095-080), 90%; 优质马血清(GIBCO, 货号 16050-122), 10%。
 2. 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%。
 3. 冻存液: 90%完全培养基, 10%DMSO, 现用现配。液氮储存。

2) 细胞处理:

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。

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:

弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

力口 2m | 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mMEDTA)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。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。

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。

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。

注意事项：

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。

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。