

### 冻存细胞收货后处理方法:

1. 收到细胞后，首先观察泡沫箱中干冰是否有剩余，冻存管是否完好，是否有解冻情况。若发现干冰完全汽化或冻存管有解冻现象，请及时拍照并与我们联系。如果细胞签收三天内未与我们联系，则默认为收货良好。
2. 细胞在液氮中可长期保存；-80℃保存不要超过一个月，长期在-80℃可能会导致细胞活率下降。
3. 复苏第一管细胞后，如有活性、状态问题及时与我们联系。

## L929 细胞说明书

### 细胞背景

NCTC clone 929 [L cell, L-929, derivative of Strain L-929]细胞是1948年3月建立的细胞系L的克隆株；细胞系L是最早建立的连续培养细胞系之一，而NCTC clone 929 [L cell, L-929, derivative of Strain L-929]是最早的克隆株。从一只100日龄的雄性C3H/An小鼠的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NCTC clone 929 [L cell, L-929, derivative of Strain L-929]。

### 细胞信息

- 细胞名称：NCTC clone 929 [L cell, L-929] (小鼠成纤维细胞) (STR 鉴定正确)
- 细胞别称：NCTC 929;NCTC-929;NCTC929;NCTC-929L;L cell;L cells;L-cell;L-cells;L cell line;L;Strain L-929;L-929;L 929;L929;L929(NCTC);Clone 929;Earles's cells;Earle's L cells
- 种属：小鼠
- 形态特性：成纤维样细胞
- 生长特性：贴壁生长
- 细胞类型：自发永生化细胞

### 培养条件

- 培养基：MEM(含NEAA)+10% FBS+1% P/S
- 培养温度：37℃。
- 气体环境：95%空气，5%CO<sub>2</sub>。
- 培养箱湿度：70% - 80%。
- 传代比例：1:3-1:4
- 换液频次：2-3次/周

## 细胞操作

### • 细胞复苏：

提前取出 1 支细胞洗涤液和 1 支细胞复苏液，放在 37°C 水浴锅中解冻。将细胞冻存管从液氮中取出，**迅速**置于 37°C 水浴中解冻。解冻后立即将细胞悬液转移到睿必特™ 洗涤液管中，轻轻混匀。将离心管置于水平离心机中，2000rpm 离心 5 分钟，弃去上清。再加入 5-6ml 睿必特™ 复苏液，用滴管轻轻吹打成单细胞悬液，避免气泡。将细胞悬液转移至 T25 细胞培养瓶中，置于二氧化碳培养箱中培养。

### • 细胞传代：

1. 当细胞汇合度达 80-90%，即可进行传代培养。
2. 弃去旧培养基，用不含钙、镁离子的 PBS 轻轻润洗细胞 1-2 次。
3. 加 1-2 mL 消化液 (0.25 % Trypsin-0.53 mM EDTA) 于培养瓶中，常温或者 37 °C 消化 1-2 min，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，加 5 ml 以上含 10% 血清的完全培养基终止消化轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出至离心管中，轻轻吹打成单细胞悬液，2000 rpm 离心 5 min 弃去上清液。
4. 按 5-6 mL/瓶补加完全培养基，将细胞悬液按 1:3 到 1:4 的比例分到新的含 5-6 mL 完全培养基的培养皿中或者培养瓶中。

## 注意事项

1. 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。
2. 建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。