

## L929 细胞说明书

### 细胞产品信息

细胞名称	小鼠成纤维细胞；L-929
细胞别称	L-929;NCTC 929; NCTC-929; NCTC929; NCTC-929L; L cell; L cells; L-cell; L-cells; L cell line; L; Strain L-929; NCTC clone 929; L 929; L929; L929(NCTC); Clone 929; Earle's cells; Earle's L cells
产品货号	CE1192
产品规格	1×10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶
生长特性	贴壁生长
细胞形态	成纤维细胞
培养体系	DMEM + 10% FBS + 1% P/S
传代比例	1:2~1:4
消化时间	2-3min
冻存条件	基础培养基：血清：DMSO=6：3：1
培养环境	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37℃
注意事项	首次传代建议 1：2。 收集细胞瓶中完全培养基做过渡对比培养。

### 冻存细胞收货后处理方法：

- 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。
- 复苏第一管如有活性、状态问题及时与我们联系，会有技术人员与您沟通指导后再复苏第二管。**特别说明：未与我方联系，擅自复苏第二管出现问题不予售后。**

### 常温细胞收货后处理方法：

- 收到细胞后，首先观察培养瓶是否完好，若发现培养瓶有破裂，培养基外溢、浑浊等现象，请及时拍照并与我们联系。
- 用 75%酒精对培养瓶表面进行消毒处理后，将培养瓶在细胞培养箱中静置 1~2 小时，恢复细胞状态。
- 静置完成后，在显微镜下观察培养瓶中细胞生长情况，并对细胞进行不同倍数拍照保存（40×，100×，200×各两张）前三天照片为重要售后依据。如发现细胞异常请及时与我们联系，如果细胞签收三天内未与我们联系，则默认为收货良好。
- 细胞生长汇合度 80%以上则对细胞进行传代，若是半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞：T25 瓶置于培养箱放置约 1~2h，显微镜下观察细胞的情况，若细胞密度在 60%以下，客户需收集 T25 瓶中的悬浮细胞离心后用完全培养基重悬后打回

到原培养瓶中继续培养。

5) 备注：运输用的培养基（灌液培养基）可以用来培养细胞，进行过渡培养。

**收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。**

### 细胞培养步骤:

#### 1) 细胞复苏:

将冻存管从液氮罐或-80℃冰箱中迅速取出，立即置于 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻，转移至含 5mL 预温完全培养基的 15mL 离心管中，轻柔混匀后低速离心（1000rpm, 5min）；弃上清，用新鲜完全培养基重悬细胞，接种于 T25 培养瓶中，补足培养基至 5mL，轻摇混匀后置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱静置培养。次日观察贴壁及生长状态，及时换液。

#### 2) 细胞传代:

1. 待细胞汇合度达 80% 时，弃旧培养基，用不含钙、镁离子的 PBS 轻柔润洗 2 次。
2. 加入 1~2mL 消化液（0.25% Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，常温消化 0.5-1min，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 5ml 以上含 10% 血清的完全培养基终止消化。
3. 轻轻敲打细胞，完全脱落后吸出至离心管中，1000rpm 离心 5-8min。
4. 弃去上清液，补加 1-2mL 完全培养基后吹匀。按 5-6mL/瓶补加完全培养基，将细胞悬液按 1:2 到 1:3 的比例分到新的含 5-6mL 完全培养基的培养皿中或者培养瓶中。

#### 3) 细胞冻存:

细胞收集参照传代步骤 1-2；按冻存数量加入无血清冻存液后直接放-80℃冰箱过夜，后续可转入液氮罐中长期保存。

### 注意事项:

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。

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。注意：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