产品货号: CXS00701



## 基本信息

细胞中文名称	小鼠肾癌细胞稳定表达荧光素酶
细胞英文名称	RENCA+LUC
细胞生长特性	贴壁细胞
细胞培养条件 (推荐)	生长培养基: RPMI-1640+10%FBS+1%P/S
	培养条件:空气,95%;二氧化碳,5%。温度:37℃,饱和湿度
细胞冻存条件	90%FBS+10%DMSO, 现配现用
	液氮保存
推荐传代比例	1:2-1:3
推荐换液比例	2-3 次/周

# 一, 常温细胞收货后处理方法

- 1. 收到常温细胞后,请先核对产品信息,并请仔细观察细胞瓶有无**漏液/瓶身破损等**现象,若有请拍照 并及时和我们联系;
- 2. 用75%酒精擦拭瓶身,显微镜下观察细胞生长状态,并拍照/录像记录细胞密度形态等情况;
- 3. 如没有发现污染等异常情况,完成观察之后,及时将细胞瓶放入培养箱中**静置 2-4 小时**,稳定和恢复细胞状态;
  - 贴壁半贴壁细胞请平放进行静置;
  - 悬浮细胞可以选择将培养瓶竖直放置培养。
- 4. 请阅读说明书,了解该细胞培养的相关信息(如培养基成分,细胞生长特性等重要信息),以方便后续细胞的处理及您实验的顺利进行!
- 5. 静置完成后,如无异常情况,可以进行常规操作: ①细胞密度不足 80%可移除多余的培养基,细胞进行正常培养; ②若细胞密度超过 80%,按照下述细胞传代步骤对细胞进行传代。
- 6. 温馨提示:细胞因沿途运输,温度变化或者晃动等而出现体积变小,或者一定量的漂浮等现象,属正常情况!

## 二,冻存细胞收货后处理方法

- 1. 收到干冰件后,请检查干冰是否已经完全挥发、冻存管瓶盖是否脱落破裂。如有上述情况请拍照后及时和我们联系;
- 收到细胞后推荐直接复苏,如果不能直接复苏,可放入-80 ℃冰箱或者液氮罐中保存,并尽快安排复苏;
- 3. 细胞复苏可参考下述细胞复苏操作方法。

# 三,常规操作步骤

Web:https://www.enkilife.cn E-mail:order@enkilife.cn (销售) tech@enkilife.cn (技支持) Tel:027-87002838

产品货号: CXS00701



#### 1. 细胞复苏:

- 1) 预热水浴锅至37℃,打开生物安全柜的紫外灯照射30 min;
- 2) 在准备好的安全柜中,准备无菌离心管、吸管、培养瓶(皿)、完全培养基等;
- 3) 从液氮中取出正确的细胞冻存管,快速放入 37°C 水浴锅中(如果水浴锅水洁净度不好,可以将冻存管放入 EP 手套中再放入水浴锅),确保冻存管液面全部浸至水浴锅水面以下,轻摇冻存管使冻存液融化:
- 4) 融化后,酒精擦拭冻存管外壁,并转移到生物安全柜中,把细胞悬液转移到含有 5 ml 培养基的离心管中 (常用 15 ml 的离心管),做标记并离心收集细胞,室温 1000 rpm 离心 3 -5 min;
- 5) 移除上清,加入新鲜的完全培养基,轻柔吹打重悬细胞,然后将细胞悬液接种到合适的培养瓶或者培养皿中,并做好标记,37°C、5% CO₂的培养箱进行培养。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

# 2. 细胞传代 (以 T25 瓶为例):

#### 贴壁细胞传代

细胞汇合度达80%-90%,即可进行传代培养。

- 1) 打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min;
- 2) 在准备好的安全柜中,准备无菌离心管、吸管、培养瓶(皿)、完全培养基等。
- 3) 移除原培养液,并用 PBS 漂洗细胞 1-2 次,漂洗时,PBS 完全覆盖细胞,并轻轻晃动培养瓶或者皿,使 PBS 充分接触细胞并进行润洗;
- 4) 润洗完成之后,移除 PBS,加入适量的可以覆盖细胞的 0.25%胰蛋白酶消化液,轻轻晃动培养瓶使之 浸润所有细胞;
- 5) 置于 37°C 培养箱进行消化,消化时间因细胞而异(通常 1-3 分钟不等),具体判断以显微镜下看到细胞明显变圆并开始脱落,则终止消化;
- 6) 加入 3-5 ml 完全培养基终止消化, 轻轻吹打使细胞脱落, 制成单细胞悬液;
- 7) 将细胞悬液转移至离心管中,室温 1000 rpm 离心 3 -5 min,观察管底有细胞沉淀之后,弃去上清液;
- 8) 加入5 ml 新鲜完全培养基重悬细胞,将细胞悬液按量按需转移到对应的培养瓶或者皿中,补足培养基、做好标记、进行继续培养,传代比例参考细胞说明书。

温馨提示:

- ①刚复苏的细胞系一般建议传代 2-3 次,细胞形态、活率稳定之后再开展后续实验研究。
- ②如果实验需要计算细胞存活率,可以选择台盼蓝染色计算细胞存活率 (RC0166)。

#### 悬浮细胞传代

#### 半换液传代

- 1) 打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min;
- 2) 在准备好的安全柜中,准备无菌离心管、吸管、培养瓶(皿)、完全培养基等;
- 3) 半换法传代时,可直接向培养瓶中添加等体积的新鲜培养液,然后将悬浮细胞轻柔吹打均匀后移入两个新的培养瓶中,做好标记进行培养。

## 全换液传代

- 1) 打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min;
- 2) 在准备好的安全柜中,准备无菌离心管、吸管、培养瓶(皿)、完全培养基等;
- 3) 轻柔吹散细胞团,收集所有培养液至离心管中,室温 1000 rpm 离心 3-5 min, 弃去上清液;

Web:https://www.enkilife.cn E-mail:order@enkilife.cn (销售) tech@enkilife.cn (技术支持) Tel:027-87002838

产品货号: CXS00701



4) 加入新鲜的培养基,轻柔吹打均匀后移入两个新的培养瓶中,做好标记进行正常培养。

#### 3. 细胞冻存:

- 1) 打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min;
- 2) 在准备好的安全柜中,准备无菌离心管、吸管、冻存液等;
- 3) 配置冻存液: 冻存液配方可以选择 90% FBS+10% DMSO 或者 95% 完全培养基+5% DMSO,特殊配方请参见细胞说明书;
- 4) 当细胞密度达到 80%以上,按照细胞传代的方式制备细胞悬液,离心收集细胞沉淀,在生物安全柜中,加入适量的冻存液(建议冻存细胞密度为 5\*10⁵~10⁵/ml) ,每管冻存体积建议 0.5-1 ml,冻存管做好标记之后放入程序冻存盒中,放入-80 ℃冰箱过夜,次日转入液氮管进行长期保存。

发表[中文论文]请标注: RENCA+LUC (CXS00701) 由武汉恩玑生命科技有限公司提供; 发表[英文论文]请标注: RENCA+LUC (CXS00701) were obtained from Wuhan EnkiLife Science& Technology Co., Ltd.

备注:该细胞仅供科研使用! (后附售后说明)

Web:https://www.enkilife.cn E-mail:order@enkilife.cn (销售) tech@enkilife.cn (技术支持) Tel:027-87002838

产品货号: CXS00701



# 售后服务说明

# 一、细胞出现问题,可重发的情况有哪些? 判定标准是什么?

- 1. 细胞运输途中出现的各种问题:细胞丢失、瓶身破损等,免费重发细胞;
- 2. 常温细胞为 T25 瓶发货,若收到细胞后状态和发货时(请参考细胞发货图片)差异大,细胞活率低,请及时拍照记录,于收货当天提供显微镜下细胞图片给我司人员,经过调整培养一周后,状态未好转的,可免费重发细胞;
- 细胞污染问题,常温发货的细胞静置 2 小时候且未开封,出现污染,提供清晰的细胞污染照片,可免费重发细胞;
- 4. 干冰冻存发货的细胞复苏后 3 天,细胞存活率低于 40%, (需提供真实清晰的细胞状态照片)可免费重发细胞;
- 5. 细胞收到当天以及第 2, 3 天请拍照, 3 天未告知的, 视为产品合格。4-7 天内出现问题, 能提供收到细胞前 3 天照片和细胞出现问题时照片以及细胞相关操作的详细步骤的, 并跟技术人员沟通的, 由双方进行协商处理可以按合同价的 50%收费重发。

# 二、细胞出现问题,不予以重发的情况有哪些?

- 收到常温细胞时细胞状态无异常,后续传代培养导致污染、细胞状态差或者细胞冻存之后复苏不活/活力不佳,不予免费重发;
- 2. 非推荐细胞培养体系导致的细胞状态不好,不予免费重发;
- 3. 细胞培养出现问题,未在一周内向公司反馈,且未提供真实清晰的收货当天的细胞照片,不予免费重发;
- 4. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的,不予免费重发。

## 三、其他说明

- 1. 如果您在细胞培养过程中出现任何疑问,欢迎和我们联系和沟通;
- 购买细胞以及匹配的专用培养基、血清套餐的产品,自收货之日起30天内,若细胞状态出现异常,可以免费 发常温细胞一次,或收取干冰费用发冻存细胞一次(不包含原代细胞);
- 3. 自收货之日起30天内因客户原因导致细胞状态不佳,可以申请一次低折扣补发(原代细胞除外)。

Web:https://www.enkilife.cn E-mail:order@enkilife.cn (销售) tech@enkilife.cn (技术支持) Tel:027-87002838