

OriCell®

## 细胞产品手册

OriCell® Mino

人外周血套细胞淋巴瘤细胞系

产品货号：H3-3301



*We help you discover life*

## 产品介绍

人外周血套细胞淋巴瘤细胞系 (Mino) 是 R.J.Ford 从一名 64 岁白人男性套细胞淋巴瘤患者的外周血中分离出来的。Mino 细胞起源于外周血单核细胞 (PBMCs)，具有淋巴母细胞的特征，在体外可以以悬浮状态单独或成簇生长，为超三倍体。该细胞遗传学特征包括细胞周期蛋白 D1 的表达，未检测到细胞周期蛋白 D2 和细胞周期蛋白 D3 的表达。此外，还检测到视网膜母细胞瘤蛋白的主要磷酸化和肿瘤抑制基因产物 p53、p16(INK4a)和 p21(WAF1)的表达。

由于其来源于淋巴瘤患者，因此对于研究淋巴瘤的发病机制和治疗具有重要价值，主要用于生物学特性、疾病、药物、免疫学研究等。

**注意：**本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

## 产品信息

产品名称	人外周血套细胞淋巴瘤细胞系
简称	Mino
别称	MINO
货号	H3-3301
规格	1×10 <sup>6</sup> 个/管 或 1×10 <sup>6</sup> 个/瓶
组织来源	人外周血
细胞特性	悬浮生长；淋巴母细胞样
培养条件	95% 空气；5%CO <sub>2</sub> ；37°C
培养基	RPMI-1640+15%FBS
倍增时间	45~60 h
生物安全等级	1
保存条件	液氮 (-196°C)
注意事项	——

**注意：**本产品在生产过程中严格控制无菌。后续培养请根据实际情况选择是否添加抗生素。

## OriCell® Mino 细胞系在倒置相差显微镜下的形态



## 质量控制

- 通过细菌、真菌、支原体、内毒素检测。
- 通过细胞复苏活力检测。
- 通过 STR 检测。

详情见《产品检测报告》。

## 处理原则

1. 严格的无菌环境。务必保证实验室整体、超净台和培养箱的清洁。
2. 规范的操作方式。请按照产品说明书描述的方式操作，严格控制变量，做好对照实验。
3. 需要合适的、质量可靠的实验耗材和试剂。本产品需使用适合悬浮细胞生长的培养容器，且不建议重复使用。使用的试剂必须经验证可靠，适宜细胞生长且批间差异小。

**注意：**本产品冻存液中含有 DMSO，其具有潜在风险，请谨慎处理。

本产品说明书中使用的试剂简写规则如下：

简写	名称	货号
FBS	Fetal Bovine Serum 胎牛血清	参考官网信息
BCS	Bovine Calf Serum 小牛血清	SBCST-01001
Glu	Glutamine 谷氨酰胺	SGLU-10201
SP	Sodium Pyruvate 丙酮酸钠	SCSP-10301
Dex	Dexamethasone 地塞米松	SDEX-10401
NBCS	Newborn Calf Serum 新生牛血清	NCSST-01001
HS	Horse Serum 马血清	SCHST-01001
NEAA	Non Essential Amino Acid 非必须氨基酸	NEAA-10201
β-mer	β-mercaptoethanol β-巯基乙醇	BMER-10301
P/S	Penicillin- Streptomycin 青霉素-链霉素（双抗）	ATPS-10001
ITS	Insulin、Transferrin、Selenite 胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸添加物	ITSS-10201

## 细胞的复苏和培养

### 所需材料

- OriCell® Mino 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基

**注意：**收到的细胞如 24 h 内复苏，可存放于-80°C冰箱；超过 24 h 请存放于液氮中，复苏前 10 min 取出，放于-80°C，让管中液氮挥发。

### 操作步骤

1. 水浴锅 37°C预热。
2. 完全培养基温浴到 37°C。
3. 在 15 mL 离心管中加入 5 mL 以上完全培养基备用。
4. 从-80°C冰箱中取出细胞，放入 37°C水浴锅中，快速晃动，使冻存液迅速融化。

**注意：**1) 融化过程必须晃动冻存管，保证冻存液融化迅速、均匀；

2) 晃动时应避免水没过管盖造成污染；

3) 管内冻存液融化至只剩一个约 2 mm 直径的冰晶时，即停止水浴。继续晃动冻存管，至冰晶融化。

5. 用 75%医用酒精擦拭冻存管外表面。
6. 在超净台中打开冻存管，用巴氏吸管或移液枪吸取细胞冻存悬液，转移至先前准备的离心管中。
7. 用 1 mL 完全培养基洗涤冻存管 1 次，收集残留细胞，减少损失。
8. 细胞悬液以 140×g 离心 5 min。  
**注意：**请以公式  $a=\omega^2r$  ( $a$ :向心加速度； $\omega$ :旋转角速度， $\omega=\pi n/30$ ； $r$ :转子半径) 计算相应转速。
9. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
10. 将细胞接种到 1 个 T25 培养瓶或底面积相当的培养容器中。加入足量完全培养基，1 个 T25 培养瓶中培养基总量不少于 5 mL。
11. 摇匀细胞，放入 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中。
12. 复苏次日，观察细胞状态，并更换新鲜的完全培养基或传代。
13. 之后，每 3 天更换一次完全培养基，直到细胞生长至合适密度，即需传代。

## 常温细胞接收处理

### 所需材料

- OriCell® Mino 细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基
- 75%医用酒精
- 数个无菌的 EP 管
- 两个无菌的 50 mL 离心管

**注意：**1) 收到常温运输的细胞，取出细胞培养瓶后请仔细核对标签信息；

2) 检查培养基是否浑浊；

3) 瓶身有无裂痕；

4) 瓶口有无培养基渗漏。

如有任何异常情况，请及时与我们联系。

### 操作步骤

1. 用 75%医用酒精全面喷洒擦拭细胞培养瓶，转移入超净工作台。
2. 去除瓶口封口膜，再用蘸有 75%医用酒精的洁净无纺布擦拭瓶口。
3. 镜下观察细胞，检查是否出现大量死细胞。
4. 若无异常，在超净工作台中打开培养瓶，将细胞悬液均分，转移到两个 50 mL 离心管内。
5. 细胞悬液以 140×g 离心 5 min。

**注意：**请以公式  $a=\omega^2r$  ( $a$ :向心加速度； $\omega$ :旋转角速度， $\omega=\pi n/30$ ； $r$ :转子半径) 计算相应转速。

6. 吸取至少 2 份 1 mL 离心上清至无菌的 EP 管中，妥善保存，以备检测。

**注意：**留样的细胞培养基请放置 4°C 冰箱保存。若细胞短期内出现污染，请取其中 1 份做微生物检测；若直到细胞第二次传代没有任何异常，则可丢弃样品。

7. 弃去多余的离心上清，加入 2 mL 完全培养基，轻柔吹打细胞沉淀，充分吹散、混匀。
8. 将细胞按  $1.0\sim 2.0\times 10^5$  cells/mL 的密度接种到培养器皿中，加入足量的完全培养基。
9. 摇匀细胞，将放入 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的 CO<sub>2</sub> 培养箱中。
10. 之后，每 3 天更换一次完全培养基，直到细胞生长至合适密度，即需传代。

## 细胞的换液

---

### 所需材料

- 适宜细胞生长的完全培养基

### 操作步骤

**注意：**为避免反复温热培养基，如果在一次操作中无法用完整瓶培养基，建议分装到适当的无菌容器中。

换液时只取当天所需培养基量进行预热。

1. 镜下观察细胞，如果有细胞出现贴壁，尽量不要拍打培养器皿底壁以免其脱壁。
2. 用巴氏吸管将细胞悬液转移至离心管中。
3. 降低离心力为  $140\times g$ ，将细胞悬液离心 4 min 后，去除上清液。
4. 向细胞沉淀物加入 1 mL 完全培养基，轻轻重悬细胞。
5. 将细胞悬液移入一个新的培养器皿中。
6. 加足量的培养液，在  $37^{\circ}\text{C}$ 、 $5\%\text{CO}_2$ 、饱和湿度的培养箱中培养。
7. 之后，视培养液情况和细胞的生长情况，予以换液或传代。一般隔天换液。

### 传代时机判断

一般情况下，人外周血套细胞淋巴瘤细胞Mino在培养2~3天后进行传代。

## 细胞的传代

### 所需材料

- OriCell® Phosphate-Buffered Saline (1×PBS) (货号: PBS-10001, 以下简称 PBS)
- 适宜细胞生长的完全培养基

### 操作步骤

1. 将完全培养基预热至 37°C。
2. 用巴氏吸管将细胞悬液转移至离心管。用 PBS (T25 培养瓶加入约 3 mL, T75 培养瓶加入约 6 mL) 洗涤容器 1 次, 收集残留细胞。
3. 收集的所有细胞悬液以 140×g 离心 5 min。
4. 离心后去除上清。加入 2 mL 完全培养基, 轻柔吹打细胞沉淀, 充分吹散、混匀。
8. 将细胞按  $(2\sim3) \times 10^4$  个活细胞/cm<sup>2</sup> 接种至适宜的培养容器内。

**注意:** 我们建议有条件且计数效率较高的情况下, 进行手工计数, 以期获得精准的细胞浓度指导接种; 在没有精确计数条件的情况下, 按照适宜比例传代是更好的方法。通常 OriCell® Mino 细胞传代比例为 1:2~1:4, 72 h 内生长至可传代汇合度。请根据细胞实际情况调整传代比例。

5. 摇匀细胞, 放入 37°C、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中。
6. 传代次日, 观察细胞状态。给传代的细胞换用新鲜的完全培养基 (已预热到 37°C)。
7. 每 3 天更换一次新鲜的培养基, 待细胞生长至合适密度, 即需传代或冻存。

## 细胞的冻存

### 所需材料

- OriCell® 通用无蛋白非程序冻存液 (货号: NCPF-10001)
- OriCell® 通用血清型非程序冻存液 (货号: NCRC-10001)

### 操作步骤

1. 待细胞生长至可传代的密度, 即可准备冻存。
2. 细胞收集请参考 OriCell® Mino 细胞的传代操作步骤 1~3。
3. 离心后去除上清, 用适量冻存液均匀重悬细胞。
4. 将细胞按比例或数量分装至冻存管中。

**注意:** 在没有成熟的计数条件下, 我们建议将细胞按比例分装冻存即可, 长时间在非培养条件下放置会严重影响细胞的状态。在计数时, 我们建议将细胞放置于 4°C 冰箱内, 以减弱细胞代谢, 较好地保持细胞状态。

5. 若选用 OriCell® 非程序冻存液, 可将冻存管直接分散放入 -80°C 冰箱中。

**注意:** 细胞冻存期间, 特别是开始冻存的 4 h 内, 不可打开冰箱门, 这将严重影响细胞冷冻存活率。

6. 8 h 后即可将细胞转移入液氮长期保存。

**注意:** 细胞不可长期保存在 -80°C 冰箱中。我们建议在 -80°C 冰箱中的保存时间不要超过 48 h。

赛业 (广州) 生物科技有限公司保留 OriCell® 细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业 (广州) 生物科技有限公司的书面许可, 本文件的任何部分,

不得改编或转载用作其他商业用途。