

## 鸡胚成纤维细胞(UMNSAH/DF-

### 细胞介绍

该细胞是起源于 10 日龄的 ELL-0 鸡蛋的鸡细胞株，自发永生化。分离原代鸡胚成纤维细胞并在培养液中培养；传代直到衰老；在衰老过程中离心以保持细胞培养在 30%到 60%满；不衰老的克隆进行鉴定并传代不少于 30 次。在软琼脂上没有观察到克隆增殖，说明这些细胞是永生化而没有转化。该细胞可作为病毒增殖、重组蛋白表达和重组病毒生产的基质。

### 细胞特性

**来源：**鸡胚

**形态：**成纤维细胞，贴壁生长

**含量：**>1x10<sup>6</sup> 个/mL

**污染：**支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性

**规格：**T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

### 细胞接受后的处理：

- 1.收到细胞后，请检查是否漏液，如果漏液，请拍照片发给我们。
- 2.请先在显微镜下确认细胞生长状态，去掉封口膜并将 T25 瓶置于 37° C 培养约 2-3h
- 3 弃去 T25 瓶中的培养基，添加 6ml 本公司附带的完全培养基。
4. 如果细胞长满（90%以上）请及时进行细胞传代，传代培养用 6ml 本公司附带的完全培养基。
5. 接到细胞次日，请检查细胞是否污染，若发现污染或疑似污染，请及时与我们取得联系。

**细胞用途：**仅供科研使用。

本公司的细胞培养操作规程，供参考

### 培养基及培养冻存条件准备：

1. 准备 DMEM 培养基(DMEM, GIBCO, 货号 11995-065), 90%;优质胎牛血清, 10%。
  2. 培养条件：气相：空气, 95%;二氧化碳, 5%。温度：37° C, 培养箱湿度为 70%-80%。
- 冻存液：90%血清, 10%DMSO, 现用现配。液氮储存。

### 细胞处理：

**复苏细胞：**将含有 1mL 细胞悬液的冻存管迅速放入 37° C 水浴中（水面要低于冻存管盖部）摇晃解冻，移入事先准备好的含有 4mL 培养基的 15ml 离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，加入 1mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液移入含有 5ml 培养基的培养瓶中培养过夜。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入 3ml 此细胞的培养基终止消化。轻轻吹打后吸出，移入 15ml 离心管中，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，加入 1mL 培养液



后吹匀。移入到事先准备好的含有 5ml 培养基的 T-25 培养瓶或含有 14ml 培养基的 T-75 培养瓶中培养。

**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，先要消化处理并进行细胞计数。消化方法按照细胞传代方法的 1-3 步骤进行，最后的重悬液使用血清。悬浮细胞直接计数后离心，用血清重悬浮，加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀，按每 1ml 的数量分配到冻存管中。本公司按每个冻存管细胞数目大于  $1 \times 10^6$  个细胞冻存。

**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。