

Beta-TC-6 小鼠胰岛素瘤胰岛  $\beta$  细胞

Mouse Pancreatic Cancer Beta Cells ,BetaTC6

**细胞介绍**

这株细胞来源于转基因小鼠中生长的一个胰腺肿瘤(胰岛素瘤)。这种小鼠携带了大鼠胰岛素 II 基因启动子调控的 SV40 早期基因的假基因结构。细胞包含丰富的胰岛素和小量的胰高血糖素及生长抑素。响应葡萄糖而分泌胰岛素[PubMed:7533732]

**细胞特性**

- 1) 来源: 胰岛素瘤
- 2) 形态: 上皮细胞样, 贴壁生长, 少量悬浮。
- 3) 含量:  $>1\times10^6$  细胞数
- 4) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途: 仅供科研使用。

**运输和保存: 干冰运输及复苏好存活细胞:**

- (1) 1mL 冻存管包装干冰运输, 收到后-80 度冰箱保存过夜后转入液氮或直接复苏, 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。
- (2) T25 瓶复苏的存活细胞常温发货, 收到后按照细胞接收后的处理方法操作。

**细胞接收后的处理:**

- 1) 收到细胞后, 75% 酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37°C 培养箱放置约 2-3h, 若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染, 请拍照后及时联系我们。
- 2) 请在 4 或 5X 显微镜下确认细胞状态, 同时给刚收到的细胞拍照 (10 $\times$ , 20 $\times$ ) 各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存, 作为售后时收到时细胞状态的依据。
- 3) 半贴细胞和贴壁不牢(悬浮)细胞: T25 瓶置于 37°C 培养箱中约 2-3h, 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, 若细胞生长 70%-90% 对细胞进行传代, 传代时需要收集培养基中悬浮的细胞离心后回收。

**4) 备注: 运输用的培养基(灌液培养基)不能再用来培养细胞, 请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。**

**一. 培养基及培养冻存条件准备**

**1) 准备 DMEM(含 1.5g/L NaHCO<sub>3</sub>, 推荐 (GIBCO, 添加 NaHCO<sub>3</sub> 1.5g/L)) 培养基; 优质胎牛血清, 15%; 双抗 1%。**

**注意事项:**

1. Beta-TC-6 细胞生长缓慢, 这些细胞从冷冻保存中恢复需要几天的时间。开始时通常具有少量可存活的漂浮细胞, 其最终会形成簇并粘附在培养瓶底部, 它们成簇地连接并形成堆积细胞的岛屿。细胞不会完全百分之百融合, 培养物上会粘附可存活的漂浮细胞, 可通过温和离心保留。在添加细胞前, 培养基至少要提前 15-30 分钟平衡温度和 pH。

2. 该细胞在 DMEM(含 1.5g/L NaHCO<sub>3</sub>) 培养基中生长良好, 大部分品牌的 DMEM 含有较高浓度的 NaHCO<sub>3</sub> (3.7g/L), 若使用 DMEM (3.7g/L NaHCO<sub>3</sub>) 培养基培养细胞时需要提高 CO<sub>2</sub> 浓度 (7%-10%)。

**2) 培养条件: 气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。温度: 37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。**

网址: www.hfwanwu.com

电话: 400-1016-218

地址: 合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



### 3) 冻存液: 90%血清, 10%DMSO, 现用现配。

#### 二. 细胞处理:

1) **冻存细胞的复苏:** 将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min, 弃去上清液, 完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶(或皿)中 37°C 培养过夜。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:** 如果细胞密度达 70%-90%, 即可进行传代培养。该细胞为悬浮和轻微的贴壁细胞, 传代可以参考以下方法:

- 1、收集: 将培养瓶中的悬浮的细胞收集到离心管中。用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。由于细胞贴壁不牢 PBS 润洗后细胞会脱落所以 PBS 也要回收到离心管中。
- 2、加入 0.25% (w / v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL) 置于 37°C 培养箱中消化 1-2 分钟 (难消化的细胞可以适当延长消化时间), 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 3-4mL 含 10%FBS 的培养基来终止消化。
- 3、将收集到的悬浮细胞、pbs 清洗液中的细胞和消化下来的贴壁细胞以 1000rpm 离心 5min, 弃去上清, 补加 1-2mL 培养液后重悬混匀后将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新 T25 瓶中, 添加 6-8mL 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力, 后续传代根据实际情况按 1:2~1:5 的比例进行。

3) **细胞冻存:** 收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例:

- 1、细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中, 可使用血球计数板计数, 来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  个活细胞/ml.
- 2、1000rpm 离心 3-5min, 去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞, 按每 1mL 冻存液含  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中, 标注好名称、代数、日期等信息。
- 3、将要冻存的细胞置于程序降温盒中, -80 度冰箱中过夜, 之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

#### 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, 并请注意防护, 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。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。

#### 使用范围

本产品仅限于科学研究, 绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

网址: [www.hfwanwu.com](http://www.hfwanwu.com)

电话: 400-1016-218

地址: 合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层

