

MB49+Luc 小鼠膀胱癌细胞稳定表达荧光素酶

一、细胞简介

细胞简介	MB49 细胞来源于 C57BL/Icrl-a(t) 小鼠膀胱上皮细胞，该细胞在长期原代培养的第二天通过化学致癌物 7, 12-二甲基四苯 (DMBA; 二甲基苯并蒽) 单次 24 小时处理转化。MB49 细胞移植到同基因小鼠中会产生癌。MB49 细胞虽然是雄性来源，但核型分析表明，所分析的细胞中 100% 的 Y 染色体丢失，这种异常是人类膀胱癌的常见早期培养事件。最近的一项研究表明，MB49 细胞概括了膀胱肿瘤生长中性别差异的关键特征，在小鼠中植入 MB49 细胞发现雄性小鼠的肿瘤明显大于雌性小鼠。在二氢睾酮的存在下，MB49 细胞表现出剂量依赖的增殖增强。同时，MB49 细胞对妊娠激素、人绒毛膜促性腺激素 (hCG) 无反应。该细胞通过慢病毒转染的方式携带 Luc 基因。
细胞名称	MB49+Luc 小鼠膀胱癌细胞稳定表达荧光素酶
细胞别称	MB49+Luc; MB-49+Luc
细胞货号	Delf-16733
来源	C57BL/Icrl-a(t); 膀胱
细胞形态	上皮细胞样
生长特性	贴壁生长
培养条件	DMEM 培养基 (货号: Delf-16563); 优质胎牛血清+10% (货号: Delf-11405); 双抗+1% (货号: Delf-15487)。
培养环境	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。温度: 37°C, 培养箱湿度为 70%-80%。

二、细胞复苏方法

复苏步骤	1、将冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻; 2、加入到含 4-6mL 基础培养基 (含 10%FBS) 的离心管中混合均匀; 3、在 1000RPM 条件下离心 5min, 弃去上清液, 完全培养基重悬细胞; 4、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;
------	--

三、细胞传代方法

传代比例	1:2 (具体情况视细胞生长速度及密度决定)
传代方法	1、尽量吸干净 T25 瓶原培养基; 2、用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次，吸走润洗的 PBS; 3、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); 4、将培养瓶放入 37 度培养箱消化 (1 到 2 分钟，难消化的细胞适当增加时间);

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218



	5、消化到细胞大部分变圆并脱落，轻敲培养瓶后加入 3-4ml 含 10%FBS 的基础培养基终止消化； 6、混匀细胞吸出，1000rpm 离心 3-5min，弃上清；补加 1-2ml 完培吹匀； 7、按 1:2 分配到新的培养瓶中，添加 6-8ml 完培保持细胞生长；
注意事项	1、该细胞为稳定转染 Luc 的细胞，随细胞传代次数的增加，其 Luc 荧光强度会逐渐减弱。若实验要求需要维持荧光强度，可以加入嘌呤霉素进行再次筛选。建议收到细胞后至少传 3 代，冻存留种后再进行筛选。 2、初次进行细胞筛选时，建议加入终浓度为 1ug/ml 嘌呤霉素的完全培养基维持培养，若无细胞漂浮或者漂浮较少，即可更换为含 2ug/ml 嘌呤霉素的完全培养基继续筛选，以此类推，至最高药物浓度为 5ug/ml。 3、若筛选过程中，漂浮细胞大于 60%，则停止筛选，换成正常培养基培养，至细胞密度约 80%，可继续加入同浓度嘌呤霉素进行筛选。当加入 5ug/ml 嘌呤霉素时细胞正常增殖，可停止筛选，用不含药完全培养基正常培养。

四、细胞冻存方法

冻存液配方	冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配（推荐使用 DELF 无血清非程序细胞冻存液 Delf-16090 进行冻存细胞，快速，便捷）。
冻存规格	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。
冻存方法	1、消化并离心收集细胞，计数，推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml； 2、将细胞悬液尽快移入已经做好标记的冻存管； 3、将冻存管转入程序冻存盒，放入-80 度冰箱过夜，第二天转入液氮保存；没有程序冻存盒的实验室，加入细胞后可以将冻存管放在泡沫盒中 4 度静置 5-10min，再-20 度静置 2h 后转入-80 度过夜，第二天转入液氮保存；

五、注意事项

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。 3、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。		
细胞培养清除试剂	1、DELF 培养箱水盘除菌剂 (100x) 100ml Delf-28683 2、DELF 水浴锅除菌剂 (1000x) 100ml Delf-28682 3、DELF 细胞污染高效清除剂 (2000×) 500ul Delf-16332 4、DELF 黑胶虫清除试剂 (500x) 400ul Delf-11609 5、DELF 支原体清除试剂 (1000x) 1ml Delf-17027		

发表【中文论文】请标注：细胞由合肥万物生物科技有限公司提供

发表【英文论文】请标注：Cells were provided by Hefei Wanwu Biotechnology Co., LTD

发表论文有奖，发稿请联系我们，电话：400-1016-218

