# 小鼠 B 细胞淋巴瘤细胞 A20-Nluc-puro

#### 产品基本信息

细胞名称: A20-Nluc-puro,小鼠B细胞淋巴瘤细胞+nanoluc

种属来源:小鼠

组织来源:淋巴瘤

细胞形态: 淋巴母细胞样

生长特性: 悬浮生长

培养基: 1640+10%FBS+1%PS+0.05mMβ-巯基乙醇

生长条件:气相:95%空气+5%二氧化碳;温度:37℃

传代方法: 1:2至1:3, 每周 2-3次

冻存条件: 无血清冻存液, 液氮储存

支原体检测:无

注: 该细胞 puro 药筛浓度为 1.0 ug/ml, 培养过程中建议使用 0.5 ug/ml puro 维持

### 细胞培养操作

- 1) **复苏细胞**: 将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻,加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min,弃去上清液,加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜(或将细胞悬液加入 6 cm 皿中,加入约 4 mL 完全培养基,培养过夜)。第二天换液并检查细胞密度。
  - 2)细胞传代:如果细胞密度达80%-90%,即可进行传代培养。

方法一: 收集细胞,1000RPM 条件下离心 3-5min 分钟,弃去上清液,补加 1-2ml 培养液后吹匀,将细胞悬液按 1:2 到 1:3 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

方法二:可选择半数换液方式,弃去半数培养基后,将剩余细胞悬起,将细胞悬液按1:2到1:3的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。

- 3)细胞冻存: 待细胞生长状态良好时,可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例;
- a、收集细胞及细胞培养液,装入无菌离心管中,1000 rpm 条件下离心 4 min,弃去上清液,用 PBS 清洗一遍,弃尽 PBS,进行细胞计数。

- b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液,使细胞密度  $5\times10^{6^{\circ}}1\times10^{7}/\text{mL}$ ,轻轻混匀,每支冻存管 冻存 1mL 细胞悬液,注意冻存管做好标识。
  - c、将冻存管放入-80℃冰箱,24 h后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

## 培养注意事项

- 1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好,培养液是否有漏液、浑浊等现象,若有上述现象发生请及时和我们联系。
- 2. **仔细阅读细胞说明书,了解细胞相关信息**,如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等,确保细胞培养条件一致,若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题,责任由客户自行承担。
- 3. 用 75%酒精擦拭细胞瓶表面,显微镜下观察细胞状态。因运输问题,部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片,是正常现象。**观察好细胞状态后,75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃** 培养箱放置 4-6h。
  - 4. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养。
- 5. 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片,记录细胞状态,便于和我司技术部沟通交流。由于运输的原因,个别敏感细胞会出现不稳定的情况,请及时和我们联系,告知细胞的具体情况,以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
  - 6. 该细胞仅供科研使用。
- 7. 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1:2 传代。
- 8. 注意: 1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿。

#### 悬浮细胞收货注意事项:

- 1、收货时需镜下拍照(看密度、状态)
- 2、静置后需镜下拍照(看整体密度)
  - a. 如密度 50%以下,建议换液并竖瓶培养
  - b. 如密度 50%-80%, 建议换液培养, 隔天观察密度
  - c. 如密度 90%, 建议传代
- 3、换液及传代处理前,培养瓶竖着放置至少半小时(使细胞沉到瓶底);收集上清,必须将瓶内 所有培养基(70ml)全部收集!并用 PBS(10ml)润洗瓶底并收集! 离心转速为 1000rpm, 5min。