

细胞描述

A3亚克隆来自Jurkat细胞系。用Fas抗体处理Jurkat细胞，用有限稀释法获得一个细胞系，此细胞系对Fas介导的凋亡产生自发抗性的比例较低。得到的亚克隆对Fas-介导的凋亡十分敏感。挑选对新霉素具有抗性的野生型A3细胞，并三次用移码突变诱变剂ICR-191进行处理以分离具有抗Fas抗体杀伤的隐性突变体

货号：TC0711

细胞特性

- 1.来源:** T淋巴细胞; T细胞白血病
- 2.形态:** 淋巴母细胞, 悬浮生长
- 3.含量:** $>1 \times 10^6$ 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℃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×，20×）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. 悬浮细胞：T25瓶置于37℃培养箱放置约2-3h，然后抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心5分钟，弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中（加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基）。
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。

细胞培养步骤

一. 培养基及培养冻存条件准备:

1. 准备 1640基础培养基（推荐：iCell-0002）优质胎牛血清10%，P/S 1%
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%。
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℃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℃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80%-90%，即可进行传代培养。

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法：

悬浮状态下生长的细胞，可以通过向培养瓶中添加完全培养基来维持细胞的生长状态，一般情况下细胞密度维持在 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个/mL（不同细胞对密度要求不同，）可以维持细胞的正常生长。如需分瓶可以将细胞悬液收集到离心管中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. 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。
2. 收到细胞先不开瓶盖，瓶身擦拭酒精后放在培养箱静置2-4小时（视细胞密度而定）稳定细胞状态。接着在倒置显微镜下观察细胞生长情况，并对细胞进行不同倍数拍照（建议收细胞时就整体外观拍一张照片，观察培养基的颜色和是否有漏液情况，随后在显微镜下拍下细胞状态，100*，200*各一张），观察记录细胞在运输过程中是否有污染情况。作为我方进行销售依据。
3. 由于细胞状态受环境、操作和运输等多方面因素影响，故本公司只保证客户收到细胞一周内的细胞状态，故客户需要售后时需出示收到细胞的时间证明及客户提供收货时间和发现问题后客服人员沟通的时间证明，期间间隔时间不能大于7天。
4. 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。