

细胞描述

该细胞是Arvanitakis L等人于1995年人胸膜积液分离获得的 B淋巴细胞。
该细胞复苏后需要一到两周左右才恢复正常生长。

货号：TC0729

细胞特性

- 1.来源:** 人 男性 胸膜积液
- 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RPMI-1640（推荐iCell-0002）培养基；优质胎牛血清，20%；双抗，1%。
注意事项：该细胞复苏后成活率较低，会出现大量死细胞碎片，培养一到两周后有所好转。运输途中会出现死细胞和细胞碎片，收到邮寄的活细胞的用户若发现培养物内有黑色颗粒物及细胞碎片，此为正常现象。
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%。传代周期：保持活细胞密度在 $5 \times 10^5 \sim 2 \times 10^6$ /ml之间，不可过密或过稀 换液频率：每周2-3次。
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. 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。
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。