

仅供科研使用

版本号：A 版

B95-8 细胞说明书

【货号】 BC-C-MO-003**【规格】** 1*10⁶ 个/T25 培养瓶（或冻存管）**【保存】** 液氮保存，长期**【产品介绍】**

英文名称	B95-8（种属鉴定正确）
中文名称	绒猴 EB 病毒转化的白细胞（种属鉴定正确）
种属	猴源
组织来源	外周血淋巴细胞
生长特性	悬浮生长
细胞形态	淋巴母细胞样
传代比例	1:2-1:3
换液频率	2~3 次/周
培养体系	RPMI 1640+10% FBS+1% P/S
培养条件	5% CO ₂ ; 37℃
冻存条件	冻存液：50%基础培养基+40%FBS+10%DMSO；液氮中长期保存。
生物安全等级	2 级

【收货后处理】

1、T25 培养瓶常温运输细胞

根据不同细胞生长特性，分为以下处理方式：

贴壁细胞：未超过 80%汇合度时，将培养瓶中的完全培养基收集至离心管中，留 5mL 完全培养基，放入 37℃、5%CO₂ 孵箱培养；超过 80%汇合度时，依据生长特性进行传代或冻存，具体操作见细胞传代和冻存步骤。首次传代，建议 1:2 传代（两个 T25）。

悬浮细胞：将 T25 培养瓶中的悬液收集至离心管中 1000rpm 离心 3~5min，丢弃上清，加 1~2mL 完全培养基重悬，按 1:2 比例进行分瓶传代（两个 T25），补充新鲜的完全培养基至 4~5mL/瓶，最后放入 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱中培养。

半贴壁、半悬浮细胞：①对于半贴壁半悬浮生长的细胞，悬浮细胞用离心管收集细胞悬液，1000rpm 离心 3~5min，丢弃上清。②贴壁的细胞未超过 80%汇合度时，用 5mL 完全培养基重悬收集到的细胞沉淀，然后加回原培养瓶中，放入 37℃、5%CO₂ 培养箱培养。③贴壁的细胞超过 80%汇合度时，根据贴壁细胞传代方法使用 0.25%胰酶消化收集；将悬浮细胞和贴壁细胞的沉淀用 1~2mL 完全培养基重悬收集到一起，混匀后，按 1:2 进行分瓶传代（2 个 T25）。

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。

2、冻存管干冰运输细胞

将冻存管取出转移至液氮或-80℃冰箱保存，建议尽早复苏，具体操作见细胞复苏步骤。

【复苏培养】

从液氮中取出细胞冻存管，快速将其置入 37℃水浴中解冻，直至冻存管中无结晶，然后用 75%的酒精擦拭冻存管外壁；将冻存管中的细胞悬液移至含 1mL 完全培养基的 15mL 离心管中，1000 rpm 离心 3~5min；

弃上清，用 4~5mL 完全培养基重悬细胞沉淀，接种至 T25 培养瓶，于 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱中培养；

第二天，换用新鲜完全培养基继续培养，密切观察细胞状态。

【细胞传代】

细胞收集：①贴壁细胞：当细胞生长至培养瓶或皿底面的 80%以上汇合度时，弃去培养瓶或皿中的培养基，用 PBS 清洗细胞一次，然后添加适量的 0.25%胰蛋白酶消化液至培养瓶或皿中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，加入与胰蛋白酶消化液等量（或高于消化液的量）的完全培养基终止消化，再轻轻吹打细胞使之脱落，然后将悬液转移至 15mL 离心管中。②悬浮细胞：直接收集培养瓶或皿中的细胞悬浮液转移至 15mL 离心管中。③半贴壁半悬浮细胞：先参考②收集悬浮细胞，再参考①收集贴壁细胞。

离心：收集好的细胞在 1000rpm 条件下离心 3~5min，离心好后弃除上清液。

接种：根据细胞量以适量的完全培养液重悬细胞沉淀，之后按适当比例接种到新培养瓶或皿中（细胞量及培养瓶或皿的规格可按实验要求确定）。

【细胞冻存】

细胞收集：①贴壁细胞：当细胞生长至培养瓶或皿底面的 80%以上汇合度时，弃去培养瓶或皿中的培养液，用 PBS 清洗细胞一次，然后添加适量的 0.25%胰蛋白酶消化液至培养瓶或皿中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，加入与胰蛋白酶消化液等量（或高于消化液的量）的完全培养液终止消化，再轻轻吹打细胞使之脱落，然后将悬液转移至 15mL 离心管中。②悬浮细胞：直接收集培养瓶或皿中的细胞悬浮液转移至 15mL 离心管中。③半贴壁半悬浮细胞：先参考②收集悬浮细胞，再参考①收集贴壁细胞。

离心：收集好的细胞在 1000rpm 条件下离心 3~5min，离心好后弃除上清液。

冻存液重悬：可根据细胞量（需提前计数）向沉淀细胞加入一定量的配制好的细胞冻存液（50%基础培养基+40%胎牛血清+10%DMSO），混匀后以 1mL/管加入冻存管中。

冻存：将冻存管放入装有异丙醇的的冻存盒中进行梯度降温，然后放入-80℃冰箱降温，24h 后将冻存管转入液氮罐中。（若实验室条件不足，可于冰箱上层 4℃放置 30min，随后转移至下层-20℃冷冻 2h，接下来将其放于-80℃超低温冰箱中过夜，最终将冻存管放置于液氮中以长期保存。

【售后依据】

1、T25 瓶细胞

收到细胞后,请及时核对培养瓶上标注的细胞名称是否与订购的细胞名称一致以及培养瓶是否有破损或漏液等异常情况,若有异常请及时拍照联系我们。

75%酒精棉球擦拭 T25 细胞培养瓶外部。

显微镜观察细胞生长情况,并对细胞进行不同倍数拍照保存(4×, 10×, 20×各一张)前三天照片为重要售后依据,不提供照片默认收到状态良好。

2、冻存细胞

收到细胞后,检查外包装情况、细胞名称是否一致和箱内是否还有干冰。如有外包装破损或干冰已完全挥发等问题,请及时联系我们。

【注意事项】

1、收到细胞后,及时查看产品介绍,确认细胞生长特性,并按照不同生长特性(贴壁、悬浮、半贴壁半悬浮)对细胞进行处理。

2、收到细胞后建议先不要打开培养瓶盖,将其放入 37℃培养箱中静置 3~4h 后,以稳定细胞状态。

3、有些贴壁细胞在快递运送过程中可能会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60%以下,可先离心培养瓶中的完全培养基收集脱落细胞,然后加入完全培养基重悬并吹散,加回原培养瓶并补齐培养液,再放到培养箱中继续培养。

4、如收到密闭培养瓶,处理完后放入培养箱培养时要将培养瓶盖拧松。

5、购买冻存细胞一般提供两管,复苏第一管如有活性状态问题及时与我们联系,会有技术人员与您沟通指导后再复苏第二管。特别说明:未与我方联系擅自复苏第二管出现问题不予售后。

6、建议在复苏冻存细胞时,由于液氮温度低,佩戴好防冻手套,做好防冻措施。

7、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柜内操作，并注意防护。所有废液及接触过此细胞的器皿需灭菌后方能丢弃。

8、若细胞在操作过程中发生污染，需对污染的细胞进行灭活方可丢弃。

9、本库的细胞系（株）仅用于科研工作，未经许可不得用于其他目的，使用者不得将本库细胞系（株）转让给第三者。