

## A20 小鼠 B 细胞淋巴瘤

### 使用说明书

细胞名称 Cell name	A20 细胞 (小鼠 B 细胞淋巴瘤)
货号 NO.	ZQ0917
描述 Description	A20 细胞系是 BALB/c B 细胞淋巴瘤细胞系, 来源于在老 BALB/CAn 小鼠中发现的自发性网状细胞肿瘤。
种属 Species	小鼠
组织 Tissue	B 淋巴细胞
形态 Morphology	淋巴母细胞
培养特性 Culture Properties	半悬浮
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的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
培养基 Culture Medium	<p>推荐自配培养基: RPMI-1640 (中乔新舟 <a href="#">货号: ZQ-200</a>) +10%胎牛血清 (中乔新舟 <a href="#">货号: AU0600</a>) +1%双抗 (中乔新舟 <a href="#">货号: CSP006</a>) + 0.05mM 2-Mer (中乔新舟 <a href="#">货号: CSP005</a>)</p> <p>配套完全培养基: RPMI-1640 完全培养 (中乔新舟 <a href="#">货号: ZQ-206</a>)</p> <p>气相: 空气, 95%; CO<sub>2</sub>, 5%</p> <p>温度: 37℃</p>
细胞复苏 Cell Thawing	<p>注意:低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37℃的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶分别加入约 2ml 和 7ml 培养基。</li> <li>2. 将冻存管放入 37℃水浴中, 握住小瓶晃动, 直到内容物完全融化。立即将小瓶从水浴中取出, 擦干并喷洒 75%乙醇, 移至无菌区。</li> <li>3. 小心地拆卸盖子, 不要碰到里面的螺纹, 用移液枪轻轻吸出细胞, 加入到准备好的 15ml 离心管中 1000rpm, 5min 离心。</li> <li>4. 弃上清, 轻弹管底将细胞弹散, 加入约 1ml 培养基重悬细胞并转入 T-25 培养瓶中, 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要, 松开阀盖, 以便气体交换。</li> <li>5. 将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</li> <li>6. 过夜后, 观察细胞形态和数量, 及时添加培养基。</li> </ol>
传代 Subculturing	<p>收到细胞后, 请对细胞培养瓶外表进行消毒, 将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲, 待其恢复细胞基本生长状态后, 将整瓶细胞及培养液分批离心, 详细操作参考下面步骤。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 缓冲后, 用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内, 严格无菌操作, 打开细胞培养瓶, <b>若培养瓶上无特殊标注</b>, 以 1000rpm, 5min 将所有细胞悬液分别离心后收集于离心管中, 待用; <b>半悬浮细胞, 悬浮细胞操作同上。</b></li> <li>2. 根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养, T-25 培养瓶加培养液 6-8ml。</li> <li>3. 对于悬浮细胞和半悬浮细胞, 请根据细胞数量、培养基体积和培养基颜色判断后进行及时</li> </ol>

	<p>补液。</p> <p>4.待细胞密度达到 80%以上，可进行分瓶或换液，换液时将所有细胞培养液 1000rpm,5min 离心，不建议频繁进行离心。</p> <p>5.离心后弃上清，加入新鲜培养基重悬细胞，根据细胞数量分瓶培养。</p> <p>6.如果没有特别说明，收到细胞后的第一次传代比例为 1:2，培养液必须常温。</p> <p><b>注：1.观察细胞密度最好用（4X 物镜）低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用（10X 或 20X）高倍镜观察；</b></p> <p><b>2.瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</b></p> <p><b>3.对于生长时容易聚团的悬浮细胞，若轻拍瓶壁不能拍散，可将细胞悬液离心后，用 PBS 重悬，再次离心后用稀释三到四倍的胰酶消化，将聚团细胞消化成单个细胞；</b></p> <p>4.瓶中运输的培养液不能重复使用，请及时更换新鲜培养液；</p> <p>5.请保持无菌操作，瓶盖开启前请将培养瓶瓶口再次消毒、过火；</p> <p>6.对于半悬浮细胞，如有必要可用低浓度消化液消化贴壁细胞。</p>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：无血清细胞冻存液（中乔新舟 <a href="#">货号：CSP042</a>）</p> <p>保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<p>1.在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</p> <p>2.贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法）</p> <p>3.悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心（1000rpm, 5min），加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。（以上仅为悬浮细胞处理方法）</p> <p>4.半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心（1000rpm, 5min），重悬细胞后加入培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法）</p> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>