

## B16-F10/luc 小鼠黑色素瘤带荧光素酶

一、基本信息	
细胞名称	B16-F10/luc 小鼠黑色素瘤带荧光素酶
细胞品牌	江蓝纯生物
细胞规格	1×10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶
细胞英文	B16/GFP
基本形态	梭形
传代方法	1:3 传代, 2-3 天换液一次
培养条件	气相: 空气, 95%; CO <sub>2</sub> ,5% ; 温度: 37°C
生长特性	贴壁生长
消化时间	1-2 分钟
冻存条件	无血清细胞冻存液
完全培养基	1640+10%FBS <b>B16-F10/luc 完全培养基</b>
培养环境	37°C, 5%CO <sub>2</sub> , 95%AIR
供应范围	仅供科研使用
注意事项	每传 10 代时, 用嘌呤霉素(4ug/ml)巩固一下

## 二、细胞操作

<p>到货处理</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>收到细胞后，检查外包装情况和箱内是否还有干冰。如有外包装破损干冰已完全挥发等问题，请立即联系。</li> <li>将细胞取出转移至液氮或 - 80 度冰箱保存，建议尽早复苏。</li> <li>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。</li> </ol> <p><b>特别说明：</b>未与我方联系擅自复苏第二管出现问题不予售后。</p>
<p>细胞复苏</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>从液氮中取出细胞冻存管（注意：佩戴防爆管面具），快速将其置入 37°C 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。</li> <li>将冻存管中的细胞移至含 5ml 完全培养基的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min。</li> <li>弃上清，沉淀用 5ml 完全培养基重悬，接种 T25 培养瓶，于 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。</li> <li>第二天，换用新鲜完全培养基继续培养。</li> </ol>
<p>细胞传代</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>细胞生长至覆盖培养瓶的 80% 面积时，弃 T25 培养瓶中的培养液，用 PBS 清洗细胞一次。</li> <li>添加 0.25% 胰蛋白酶消化液约 1ml 至培养瓶中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后加入 5ml 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，1000rpm 离心 5min。</li> <li>弃上清，沉淀细胞用 1-2ml 完全培养基重悬，然后按 1:2 比例进行分瓶传代（两个 T25），补充新的完全培养基至 5-8ml/瓶，放入 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。</li> </ol>
<p>细胞冻存</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>细胞生长至覆盖培养瓶的 80% 面积时，弃 T25 培养瓶中的培养液，用 PBS 清洗细胞一次。</li> <li>添加 0.25% 胰蛋白酶消化液约 1ml 至培养瓶中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后加入 5ml 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，1000rpm 离心 5min。</li> </ol>

	<p>3、弃上清，沉淀细胞加入 1ml/支的无血清冻存液，混匀后加入冻存管中。（如：冻一支，加入 1ml 无血清冻存液）</p> <p>4、将冻存细胞直接放入 - 80℃冰箱即可；如后期要将细胞转入液氮罐中，需在-80℃冰箱存放 24 小时以上。</p>
<b>T25 细胞到货处理</b>	
观察	<p>1、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。</p>
处理	<p>1、75%酒精棉球擦拭 T25 细胞培养瓶外部。</p> <p>2、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（40x,100x,200x 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。</p> <p>3、不要打开培养瓶盖，将细胞放入 37 度培养箱中静置 3-4 小时后再做处理，以稳定细胞状态。</p> <p>4、收到细胞后，及时查看说明书是贴壁细胞还是悬浮细胞形态，并按常规贴壁或悬浮细胞的传代方法操作。</p>
贴壁	<p>未超过 80%汇合度时，将瓶装的完全培养液收集至离心管中，留 5ml 完全培养基，放入 37℃、5%CO<sub>2</sub> 孵箱培养；超过 80%汇合度时，根据情况传代或者冻存，具体操作见细胞培养步骤。首次传代，建议 1:2 传代两个 T25，传代时建议一瓶用原瓶里面的完全培养基，另外一瓶用自己配的完全培养基，进行对比培养。</p>
细胞注意事项	<p>个别细胞贴壁不牢，在运输过程中发生细胞脱落，这是正常现象。</p> <p>请将培养瓶所有培养液收集至离心管，1000rpm 离心 5min，收集上清（后期对比培养使用），沉淀加入胰酶 1-2ml，轻轻吹打，重悬，消化 1-2 分钟后，加 5ml 完全培养基终止反应。再离心，弃上清，加 1-2ml 完全培养基重悬。然后按 1:2 比例进行分瓶传代（两个 T25），补充新的完全培养基至 5-8ml/瓶，放入 37℃,5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。</p>

(注意：如收到密封培养瓶，处理完后放入培养箱培养时要将培养瓶盖子拧松)

### 三、细胞备注

备注 1

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，便于本公司技术部沟通交流。

备注 2

如果细胞在运输中出现问题，可能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。

备注 3

江蓝纯生物客户在细购买细胞过程中各种问题，可以随时拨打免费服务电话 021-54720761，我们随时给予实验中的解答。

### 四、售后服务

**细胞予重发**

1. 细胞运输中遭遇的各种问题，细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。
2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。
3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。
4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。
5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。
6. 细胞活性问题，请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，经核实后，重发。

**细胞不重发**

1. 客户操作造成细胞污染，不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。
4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片，不重发。
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。
6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的，不重发。