**细胞系使用说明书**

|  |  |
| --- | --- |
| **细胞名称** | B16小鼠黑色素瘤细胞 |
| **货号** | M005 |
| **种属** | 小鼠 |
| **细胞来源** | ATCC/中科院/协和医院等地引进 |
| **生长特性** | 贴壁 上皮样和纺锤型混合 |
| **培养条件** | 培养基：90%DMEM(H)+10%FBS  温度：37℃ 气相：95%空气，5%二氧化碳 |
| **传代** | 1.用75%酒精喷洒整个培养瓶消毒，将其平躺置于培养箱中进行1-3小时的缓冲，.然后置于无菌操作台，打开瓶口，将其中的培养液去掉，再往其中加入5-6mL新鲜培养基并置于细胞培养箱中培养，根据细胞生长状况及培养基颜色变化对其进行换液以及传代；  2.待细胞长满瓶底面积70-80%，需要对其进行传代，传代比例为1:3-1：10；  3传代步骤：将0.25%胰酶-0.53 mM EDTA消化液置于37℃预热，倒掉培养瓶中的培养基，往培养瓶中加入3-5 ml PBS，轻晃洗涤后弃去。往瓶中加1-2 ml预热好的胰酶，置于室温孵育消化（第一次消化需置于显微镜下观察，以显微镜下细胞触角回收变圆、轻拍瓶壁见细胞脱落为最佳消化时间，记录最佳消化时间，以便于下次消化），消化好后加入3ml完全培养基终止消化。用移液枪轻轻吹打瓶壁上的细胞，使之完全脱落，然后收集细胞悬液，1000rpm离心3min，弃上清，加入完全培养基重悬细胞，进行传代。 |
| **保存** | 冻存条件：90%完全培养基+10%DMSO  (备注：建议使用本公司的冷冻液（H-W-100），**用4度保存的冷冻液直接重悬细胞，不能预热后使用。**)  保存条件：液氮存储 |
| **供应限制** | 仅供研究之用 |
| **常见问题及解决方案** | 1.培养瓶有破裂，培养液有漏液：细胞极大可能会污染，所以我们会及时安排帮老师解决。  2.收到细胞后尽快更换为含 10%血清的新鲜培养基，如因特殊情况需要继续使用原瓶培养基，请在原瓶培养基中额外添加 10%的血清（原瓶培养基的继续使用时间最长不宜超过 72 小时）  3.细胞漂浮：培养瓶不开封，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80%，进行消化传代；如细胞还是不贴壁，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，中间注意观察，我们的技术人员会一直跟踪指导，直到问题解决。 |