

H9/HTLV-IIIIB 人 T 淋巴瘤白血病细胞
Human T lymphoma leukemia cells;H9/HTLV-IIIIB

细胞特性

- 1) 来源: T 淋巴细胞
- 2) 形态: 淋巴细胞样, 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)。

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。

一. 培养基及培养冻存条件准备

- 1) 准备 RPMI-1640 培养基; 优质胎牛血清, 10%; GlutaMAX-1 谷氨酰胺, 1%, 双抗, 1%。
- 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%。
- 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。

使用范围

本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

