

## B16-F10 小鼠皮肤黑色素瘤细胞

### 培养说明书

|      |                                   |
|------|-----------------------------------|
| 名称   | B16-F10 小鼠皮肤黑色素瘤细胞                |
| 种属   | 小鼠                                |
| 组织来源 | 器官：皮肤；品系：C57BL/6J；疾病：黑色素瘤         |
| 生长特性 | 贴壁细胞                              |
| 细胞形态 | 成纤维细胞样                            |
| 背景描述 | B16-F10 细胞是 B16-F0 细胞的亚系。         |
| 培养体系 | RPMI-1640+10% FBS+1% P/S          |
| 传代比例 | 1:3-1:4 传代                        |
| 换液频率 | 2~3 次                             |
| 冻存条件 | 无血清细胞冻存液                          |
| 培养条件 | 95% Air;5% CO <sub>2</sub> ;37° C |
| 备注   | 建议收到细胞后，尽快更换新的培养液或传代              |

\*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。

### 复苏细胞接收后如何处理

1. 收到细胞后，请及时检查并拍照记录是否瓶身破损或有无漏液，培养液是否混浊等，如有请及时反馈。
2. 用 75%酒精消毒瓶身，放 37℃培养箱中静置 2-4h 后，显微镜下观察细胞状态并拍照记录（所拍照片将作为后续售后依据）。
3. 若细胞生长密度超过 80%以上，可直接消化传代；若密度低于 80%时，移除细胞培养瓶内培养基，预留 8-10ml 原瓶培养基继续培养，直到细胞密度 80%左右再进行传代操作，注意拧松瓶盖或更换透气瓶盖。
4. 若有贴壁细胞漂浮的，可收集上清离心，将沉淀用新的培养基接种至新的培养瓶或培养皿中。
5. 建议收到当天不要消化处理，如果细胞长满 90%，可选择传代处理。
6. 若收到细胞异常时，请及时与我们联系，对于细胞培养操作及培养注意事项有疑问的，可跟我们的技术支持交流。

### 冻存细胞接收后如何处理

1. 干冰运输，收到细胞后立即转入-80℃冰箱短暂中转或直接复苏；
2. 收到细胞后，若发现干冰已经完全挥发、冻存管瓶盖破裂脱落，请及时拍照后与我们联系。

### 细胞培养基本步骤

1. 细胞传代：细胞密度达到 80-90%时即可传代培养
  - ①弃去培养上清，用 PBS 或生理盐水清洗 1-2 次；
  - ②加入 1-2ml 0.25%胰酶（T25 瓶），使胰酶覆盖整个瓶或皿，盖好放入 37℃培养箱消化；
  - ③1-2min 后，显微镜下观察细胞，若大部分细胞回缩且有少量细胞脱落，轻轻吹打下确认消化情况后加入完全培养基终止消化；若细胞还是贴壁，放回培养箱继续消化至可以轻轻吹打下为止；
  - ④将细胞悬液 1000RPM 左右条件下离心 4min，弃上清；
  - ⑤用新鲜培养基重悬后加入培养瓶或皿中，T25 培养瓶加 6-8ml 培养基；
  - ⑥悬浮细胞直接离心收集，细胞沉淀重悬后分到新培养瓶中。
2. 细胞复苏：
  - ①将冻存管在 37℃温水中快速摇晃融化，时间 1min 左右，加入 4-5ml 培养基混匀。
  - ②在 1000RPM 左右条件下离心 4min，弃上清，加 1-2ml 培养基吹匀，将细胞悬液加入培养瓶中，补加适量培养基。
3. 细胞冻存：待细胞生长状态良好时进行细胞冻存保种
  - ①弃去培养上清，用 PBS 或生理盐水清洗 1-2 次，加入 1ml 0.25%胰蛋白酶（T25 瓶）
  - ②1-2min 后，显微镜下观察细胞，大部分细胞回缩且有少量细胞脱落，轻轻吹打下确认消化情况后加入完全培养基终止消化；
  - ③将细胞悬液 1000RPM 左右条件下离心 4min，弃上清，加 1ml 冻存液重悬细胞；
  - ④将冻存管放入程序降温盒，放入-80℃冰箱，4 小时后将冻存管转入液氮罐储存。