

Jurkat (Clone A3) 人 T 淋巴细胞白血病细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CLH200
背景描述	A3 亚克隆株来自 Jurkat 细胞系, 是用 Fas 抗体处理 Jurkat 细胞, 随后有限稀释法获得一个细胞系。A3 细胞系对 Fas 介导的凋亡产生自发抗性的比例较低, 得到的亚克隆对 Fas-介导的凋亡十分敏感。挑选对新霉素具有抗性的野生型 A3 细胞, 并三次用移码突变诱变剂 ICR-191 进行处理以分离具有抗 Fas 抗体杀伤的隐性突变体。
细胞形态	淋巴母细胞样, 悬浮生长。 该细胞为悬浮细胞, 请注意离心收集细胞悬液, 请勿直接倒掉细胞培养液。
规格	$>1 \times 10^6$ ceLLs, T25 瓶或者 1mL 冻存管包装。
细胞来源	T 细胞白血病, T 淋巴细胞。
培养基	RPMI-1640 + 10% FBS+ 1% P/S。
培养条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%; 温度: 37°C; 培养箱湿度为 70%-80%。
细胞检测	不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
传代比例	1:2-1:5; 第一次收到细胞建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。
换液频率	2-3 天。
细胞冻存液	无血清冻存液。

二、细胞收到后处理方式

- 收到细胞后, 75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37°C 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。
- 请在 4 或 5×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。
- 悬浮细胞: T25 瓶置于 37°C 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。**

三、细胞传代 (建议一传二)

对于半贴细胞和贴壁不牢 (悬浮) 细胞传代可以参考以下方法:

- 收集: 将培养瓶中的悬浮的细胞收集到离心管中。用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。由于细胞贴壁不牢 PBS 润洗后细胞会脱落所以 PBS 也要回收离心管中。
- 加入 0.25% (w/v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL) 置于 37°C 培养箱中消化 1-2 分钟 (难消化的细胞可以适当延长消化时间), 然后在显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞大部分变圆并脱落迅速拿回操作台, 轻敲几下培养瓶后加入 3-4ml 含 10%FBS 的培养基来终止消化。
- 将收集到的悬浮细胞、pbs 清洗液中的细胞和消化下来的贴壁细胞以 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。

四、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、选择指数生长期的细胞，吸去培养液，加 PBS 清洗 1-2 遍。去 PBS，加入 0.25% 胰酶 1.5mL 润洗 10 秒，去胰酶。将培养瓶放 37 度培养箱，靠残余胰酶继续消化细胞直至细胞变圆，拍打瓶侧使细胞脱落。细胞消化下来后，加 5mL 培养液全部吹打下来，再 1000RPM 离心 3 分钟。
- 2、加入 1-1.5mL 成品冻存液，分装至 2mL 冻存管里，将冻存管放入充满异丙醇的程序降温盒中，之后转入 -80℃ 度冰箱过夜，第二天再转至液氮。

五、细胞复苏

- 1、将恒温水浴锅中的水预热到 37℃。
- 2、准备一支 15mL 离心管，加入 5mL 完全培养基，放入 37℃ 水浴锅中预热。
- 3、戴上护目镜，厚毛线手套后，从液氮罐中取出要复苏的细胞，尽快转入 37℃ 恒温水浴锅中复温晃动冻存管以提高复温速率。
- 4、将融化了的冻存管中的细胞吸入事先准备的离心管中，混匀后，1000rpm 离心 5min。
- 5、准备一个 T-25 培养瓶，写上细胞名称、日期，再加入 4mL 完全培养基。
- 6、离心完成后弃去上清，用 1mL 完全培养基重悬细胞后，转入 T-25 细胞培养中，混匀后转入 CO₂ 培养箱中培养静置。

六、运输和保存

- 1、T25 瓶复苏的存活细胞常温发货，收到细胞后请镜下观察细胞生长状态，如铺瓶率超过 85% 请立即进行传代操作。
- 2、1mL 冻存细胞悬液装于 1.8mL 的冻存管中，置于装满干冰的泡沫保温盒中进行运输；收到细胞后请尽快解冻复苏细胞进行培养，如无法立刻进行复苏操作，冻存细胞可在 -80℃ 的条件下保存 1 个月。

七、注意事项

- 1、该细胞属于淋巴母细胞样悬浮生长，请注意离心收集细胞悬液，勿直接倒掉细胞培养液。
- 2、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。
- 3、从液氮中取出细胞冻存管时，若冻存管内有液氮进入，需拧松冻存管，排出内部残留的液氮，之后拧紧冻存管，置于干冰上，然后放入 37℃ 水浴中，避免温差太大造成液氮快速气化而爆炸。