

B16F10-LUC/小鼠黑色素瘤细胞-荧光素酶标记

一、基本信息

细胞名称	B16F10-LUC/小鼠黑色素瘤细胞-荧光素酶标记
细胞品牌	江蓝纯生物
细胞规格	1x10 ⁶ cells/T25 培养瓶或者 1mL 冻存管
种属来源	小鼠
组织来源	皮肤
细胞形态	上皮细胞样混有梭形细胞
细胞简介	Luciferase B16-F10 细胞稳定表达萤火虫荧光素酶。该细胞株性状稳定，培养时不需要添加抗生素维持。可用作萤火虫荧光素酶活性检测中的阳性对照，也可用于活体动物成像实验。该细胞通过慢病毒转染的方式携带 Luc 基因。B16-F10 细胞是 B16-F0 细胞的亚系。
puro 药筛浓度	B16F10-LUC 细胞 puro 药筛浓度为 1.0ug/ml，培养过程中可不用再添加 puro，如若担心抗性随着传代时间降低，可定期用 0.5ug/ml 浓度 puro 维持
生物安全等级	1
细胞代数	p3-p8
保藏机构	ATCC; CRL-6475
生长特性	贴壁生长

生长条件	气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃
培养基	90% 1640+10% FBS+PS
冻存条件	无血清冻存液，液氮储存
细胞货期	现货，1 周左右
供应范围	仅用于科研使用，不得用于其它用途

二、细胞培养操作

T 25 瓶	
收货处理	观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁，将 T25 瓶置于 37 度培养箱放置 2-4h，以便稳定细胞状态
传代密度	细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养
传代比例	首次传代建议 1：2 传代，1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿
传代方法	a、弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。 b、加 1 mL 消化液（0.25%Trypsin-0.02% EDTA）于培养瓶中，使消化液浸润所有细胞，将培养瓶置于 37℃培养箱中消化 1-3min（视细胞情况而定），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 2-3ml 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中，1000 rpm 离心 5 min，弃去上清液，补加 1-2 mL 培养液后吹匀。 c、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中，置于培养箱中培养。
注意事项	1. 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。 2. 因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。

冻存管	
收货处理	到细胞后，需立即转入液氮冻存或直接复苏
传代密度	第二天换液并检查细胞密度
传代比例	一管细胞建议接种到 10cm 培养皿或者 T25 瓶
传代方法	将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 6 cm 皿中，加入约 4 mL 培养基，培养过夜）第二天换液并检查细胞密度。
注意事项	1. 收货时若发现干冰化完，检查冻存管是否融化，若已融化需直接离心细胞接种观察，若未融化可以将细胞按正常步骤保存。 2. 为保证细胞的高存活率，收到产品后，请立即解冻复苏细胞。

三、细胞冻存操作

冻存液配方	无血清冻存液，液氮储存
细胞密度	待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例
冻存方法	a、收集细胞及细胞培养液，装入无菌离心管中，1000 rpm 条件下离心 4 min，弃去上清液，用 PBS 清洗一遍，弃尽 PBS，进行细胞计数。 b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 5x106~1x107/mL，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。 c、将冻存管放入-80℃冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

注意事项	冻存细胞转入液氮后及时复苏一管检查细胞冻存活性，若有异常，及时调整实验方案
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。

附件：B16F10-LUC 活性检测报告

检测细胞

B16F10-LUC

实验仪器及耗材

名称	来源
高速冷冻离心机	湘仪
IVIS Lumina II	精诺真
移液器	Thermo
200 μ l 吸头	NEST
1.5 ml 离心管	NEST

实验步骤

1. 消化下细胞并计数，将之重悬为 $105/\text{mL}$ ，取 100 μL 加入 96 孔化学发光板，并梯度稀释，使得每孔细胞数量为 10000 个，5000 个，2500 个。
2. 每孔加入 100 μL 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Beetle Luciferin。
3. 2 min 后将板放入 IVIS Lumina II 进行成像。

检测结果

