

## 急性早幼粒细胞株NB4说明书

### Cat NO.: SC0074

细胞名称	急性早幼粒细胞株NB4	英文名称	NB-4; NB.4
形态特性	圆形细胞	生长特性	悬浮生长
种属	人		
组织疾病	骨髓/急性早幼粒细胞白血病		
完全培养基配制	RPMI1640培养基；10%胎牛血清；1%双抗 气相：空气，95%；CO2，5%。温度：37°C，培养箱湿度70%-80%。		
传代比例/细胞消化	1:2传代，维持细胞密度在 $1 \times 10^5$ - $1 \times 10^6$ cells/mL		
细菌真菌支原体检测	阴性		
特征特性	NB-4 细胞系来源1989年第二次复发的急性早幼粒细胞白血病（APL；FAB命名法中的M3）患者的骨髓。		
细胞图片			
传代步骤	悬浮：可通过补充新鲜培养基或者离心换液两种方式维持培养，离心转速参考1200 rpm（250g左右），离心3分钟		
STR位点信息	Amelogenin X CSF1PO 11,12 D3S1358 15,17 D5S818 13 D7S820 10,13 D8S1179 10,14 D13S317 11,12 D16S539 9 D18S51 12,14 D21S11 28,33.2 FGA 21,22 Penta D 10,13 Penta E 7,13 TH01 7,9.3 TPOX 8,11 vWA 16,19		
倍增时间	~35-45h		
冻存条件	冻存液：55% 基础培养基+40%FBS+5%DMSO 温度：液氮		
保藏机构	DSMZ; ACC-207		
备注	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。		
产品使用	仅限于科学研究，不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。		

## 一、细胞收到后处理

请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。收到细胞回到自己的实验室后，先打开外包装，用75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到超净台内，严格无菌操作，不开瓶盖放培养箱静置2-3小时稳定细胞状态。镜下观察：未超过80%汇合度时，重新加入新鲜6ml完全培养基，放入37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱培养；超过80%汇合度时，根据情况传代或者冻存。悬浮细胞需离心收集处理。抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心3-5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）。

**注意发货的是密封培养瓶的话，处理完后放入培养箱培养记得培养瓶盖拧松，初次传代最好使用T25培养瓶或6cm小皿1传2)**

## 二、细胞培养步骤

1. 复苏细胞：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5mL培养基混合均匀。在1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加4-6mL完全培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜(或将细胞悬液加入6cm皿中)培养过夜。第二天换液并检查细胞密度。

2. 细胞传代：如果细胞密度达80%-90%，即可进行传代培养。

### 对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。
2. 加1-2mL消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于37℃培养箱中消化1-2min，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5ml以上含10%血清的完全培养基终止消化。
3. 轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出悬液至15ml离心管中，在1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀将细胞悬液按1：2到1：5的比例分到新的含5-6ml培养液的新皿中或者瓶中。

## 细胞培养说明书

### 三、对于悬浮细胞，传代可参考以下方法：

- 1: 收集细胞，1000RPM条件下离心3-5分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀，将细胞悬液按1：2到1：5的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。
- 2: 较脆弱的悬浮细胞可选择半数换液方式将培养瓶竖置1-2小时待大部分细胞沉到底部后，弃去半数培养基后，将剩余细胞悬起，将细胞悬液按1：2到1：3的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。
- 3: 细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，进行离心收集，1000RPM条件下离心3-5分钟，去除上清，按冻存数量加入血清及DMSO，冻存比例为90%FBS+10%DMSO。

### 特殊细胞收到注意事项

部分细胞由于贴壁不牢在运输过程中发生细胞脱落，这是正常现象正确处理后可以正常生长。

- 1、将培养瓶内所有培养基转入无菌离心管，离心收集细胞（1200rpm 3-5min）去除旧培养基

- 2、用PBS重悬细胞，将所有细胞收集到一个离心管中，再次离心（1200rpm 3~5min）去除PBS；
- 3、加入1ml左右0.25%胰酶重悬细胞，混匀即可，不能吹打太多次，放入培养箱消化，根据细胞特性决定消化时间（约1~2分钟）；
- 4、消化好后，用移液枪轻轻吹打细胞悬液，使细胞团分散，迅速加入3-5ml完全培养基混匀以终止消化，离心（1200rpm 3-5min）去除胰酶；
- 5、加入5ml左右的细胞相应的完全培养基混匀，按比例接入无菌培养瓶/皿中；
- 6、显微镜下观察看细胞是否成均匀分散的单颗细胞，若有3-5个成团的小细胞团可不用重新消化，使之贴壁后待细胞生长稳定后再消散细胞。