

## Ana-1 (小鼠巨噬细胞)

|                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>产品名称：</b> 小鼠巨噬细胞                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>别称：</b> Ana-1; ANA1;                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>背景：</b> ANA-1 细胞是从感染 J2 重组逆转录病毒用于永生化的 C57BL/6 (H-2b) 小鼠的骨髓细胞中建立的。ANA-1 细胞表现出粘附细胞和非粘附细胞的二型生长模式，形态特征是大量空泡和偏心核。ANA-1 细胞 FcγR (Ly-17)、Mac-1、Ly-5 和热稳定抗原 (HSA) 以及 Ly5.1 和 Ly6B 呈阳性。ANA-1 细胞还持续表达溶菌酶，表现出非常高的吞噬活性，并且在 LPS 治疗时具有肿瘤活性，因此属于骨髓单核细胞谱系。 |
| <b>种属：</b> 小鼠                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>年龄（周龄）：</b> 未知                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>组织来源：</b> 巨噬细胞                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>生长特性：</b> 半贴半悬                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>细胞形态：</b> 巨噬细胞样                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>细胞类型：</b> 肿瘤细胞                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>生长培养基：</b> RPMI-1640+10% FBS+1% P/S                                                                                                                                                                                                        |
| <b>推荐传代比例：</b> 1:2                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>推荐换液频率：</b> 2~3 次/周                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>倍增时间：</b> 未知                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>冻存条件：</b> 冻存液：55%基础培养基+40% FBS+5% DMSO 温度：液氮                                                                                                                                                                                               |
| <b>培养条件：</b> 气相：空气，95%；CO <sub>2</sub> ，5% 温度：37℃                                                                                                                                                                                             |
| <b>细胞用途：</b> 仅供科研使用                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>注意事项：</b> 该细胞为半贴半悬（贴壁和悬浮同时存在）细胞，请注意离心收集细胞悬液；请勿直接倒掉细胞培养液。                                                                                                                                                                                   |

## 常温细胞收货当天处理方法

1. 观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，显微镜下观察细胞状态，去掉封口膜不开瓶盖，用 75%酒精擦拭细胞瓶表面，直接将其置于细胞培养箱内静置培养 2-4h；部分贴壁细胞会因运输从瓶壁脱落，可在静置后再次观察细胞贴壁情况；
2. 静置后可保留 6-8ml 培养基，将培养瓶内多余的完全培养基转移至 50ml 无菌离心管中，后续培养可以继续使用，转移多余培养基过程中注意瓶口消毒；该细胞为半贴半悬细胞，悬浮细胞是活细胞，可用离心管收集上清细胞悬液后，于 1000rpm 离心收集细胞接种原瓶继续培养；
3. 上述操作后，细胞密度低于 80%可继续培养，达到 80%后，可参考细胞操作规程进行细胞传代或冻存；
4. 确认细胞状态良好后，应及时将细胞冻存或部分冻存，优先保存种子细胞，留种成功后，再进行后续的相关实验，避免后期实验失误或因细胞的污染或死亡而导致的种子细胞丢失。

## 冻存细胞收货当天处理方法

1. 开箱后核对细胞信息，过程中冻存管置于干冰中即可，不要让冻存细胞离开干冰；
2. 若收到细胞当天不复苏，请及时将细胞转移至液氮罐中，注意转移过程动作要迅速；
3. 若无液氮罐，请及时将细胞转移到-80℃冰箱中保存，尽量靠内放置，不要靠近冰箱门或壁边缘等温度不稳定区；
4. 如需要复苏，请提前准备好适合该细胞生长的培养基，请按细胞复苏流程操作，离心吸出的上清建议吸至无菌容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可以重复离心重悬接种步骤；复苏的细胞不建议当天或者第二天换液，部分细胞贴壁时间长(48h 左右)，若复苏有异常，请及时跟我们联系。

## 售后条例

### ■ 符合免费重发的条件：

1. 常温细胞开瓶操作前有污染现象并于收货当天拍照反馈的(照片为原培养瓶未拆封外观照和镜下照片)；
2. 常温细胞开瓶操作前有漏液现象污染现象并于当天拍照反馈，三天内细胞出现污染现象的；
3. 常温细胞开瓶操作前有细胞状态异常现象并于收货当天拍照反馈，(照片为原培养瓶未拆封外观照和镜下照片)，根据情况不能调整培养或者调整培养一周后，状态仍然异常的；
4. 常温或冻存细胞运输途中遭遇的各种问题，培养瓶破裂，冻存管破损、冻存管融化等情况的；
5. 冻存细胞复苏有问题反馈后，若在技术支持的指导下细胞还是不能存活的，可重发常温细胞，若要重发冻存的，需要加收干冰费用。

### ■ 不符合免费重发的条件：

1. 收到常温细胞时状态好，用户自身操作导致细胞污染、细胞状态不佳、细胞冻存后复苏不活的，不予免费重发；
2. 细胞培养时，经其他非细胞培养体系外源试剂处理导致细胞出现问题，不予免费重发；
3. 细胞培养过程中出现问题，没有及时反馈的，不予以免费重发；
4. 收到冻存细胞复苏后状态好，用户自身操作导致的细胞污染、细胞状态不佳、细胞冻存后复苏不活的，不予免费重发。

## 细胞操作规程，仅供参考

### ■ 细胞复苏

1. 液氮中取出离心管，注意检查离心管密闭性，迅速放入 37℃ 水浴中摇晃解冻；
2. 即将解冻完全时，停止水浴，移入事先准备好的含有 9ml 培养基的 15ml 离心管中，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清，加 5ml 细胞培养基，转移至细胞培养瓶中，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。

### ■ 细胞传代

1. 该细胞为半贴半悬细胞，T25 瓶为例，部分贴壁不牢的细胞可直接吹起使之悬浮；吸出原培养液，上清中悬浮细胞是活细胞，可用离心管收集细胞悬液后，于 1000 rpm 离心收集细胞；
2. 贴壁较牢固的细胞可加入 2ml 左右 PBS，轻轻晃动培养瓶润洗细胞，吸出 PBS 丢弃；
3. 加入 1ml 左右 0.25% 胰蛋白酶溶液（含 EDTA），轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞；
4. 放入培养箱消化 1-2min，显微镜下看到细胞块中间的细胞明显变圆变亮有间隙时可终止，具体细胞消化时长根据镜下细胞状态调整；
5. 加入 3ml 含血清的培养基终止消化，吹打细胞使之脱壁并在液体里反复吹打使细胞尽量呈单颗细胞的悬浮液；
6. 将悬浮的细胞和贴壁的细胞收集到一起混匀后，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清；
7. 细胞沉淀加入新鲜培养基，吹打几下混匀细胞即可，按推荐比例接种到新培养瓶，补足培养基，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。
8. 步骤 6 吸出的上清可以吸出至旧培养容器中，镜下观察是否残留细胞，如果较多细胞残留于上清中，可以重复离心重悬接种步骤。

## ■ 细胞冻存

1. 该细胞为半贴半悬细胞，T25 瓶为例，部分贴壁不牢的细胞可直接吹起使之悬浮；吸出原培养液，上清中悬浮细胞是活细胞，可用离心管收集细胞悬液后，于 1000 rpm 离心收集细胞；
2. 贴壁较牢固的细胞可加入 2ml 左右 PBS，轻轻晃动培养瓶润洗细胞, 吸出 PBS 丢弃；
3. 加入 1ml 左右 0.25%胰蛋白酶溶液（含 EDTA），轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞；
4. 放入培养箱消化 1-2min，显微镜下看到细胞块中间的细胞明显变圆变亮有间隙时可终止，具体细胞消化时长根据镜下细胞状态调整；
5. 加入 3ml 含血清的培养基终止消化，吹打细胞使之脱壁并在液体里反复吹打使细胞尽量呈单颗细胞的悬浮液；
6. 将悬浮的细胞和贴壁的细胞收集到一起混匀后，1000rpm/min 离心 5 分钟，离心完吸出上清；
7. 加入细胞冻存液，吹打几下混匀细胞即可，按细胞计数调整细胞至合适密度，一般  $(1-3) \times 10^6/\text{ml}$ ，分装至细胞冻存管中；
8. 冻存管按 4℃，30min -20℃，30min -80℃的顺序进行程序性降温或使用程序性降温盒放置于-80℃，次日转移至液氮长期保存；若使用商品化细胞冻存液，按商品说明书操作。

声明：该产品仅限于实验科学研究使用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何法律责任。