

## 细胞培养说明书

仪器	试剂	耗材
离心机	胎牛血清 (FBS) 品牌 EK-Bioscience 货号 (C2056-1A)	离心管 (15ml、50ml)
生物安全柜	无菌 1×PBS pH=7.2	T-25 细胞培养瓶
电动移液器	0.25%胰蛋白酶+0.02%EDTA	一次性无菌移液管 (2ml、5ml、10ml)
CO <sub>2</sub> 培养箱	完全培养基 (含血清)	1.8mL 冻存管
倒置显微镜	无血清冻存液品牌 EK-Bioscience, 货号 (S002)	程序降温盒
液氮罐		
恒温水浴锅		
超低温冰箱		

### 1、细胞传代:

- 1) 细胞生长至覆盖培养瓶的 80%面积时, 弃 25cm<sup>2</sup> 培养瓶中的培养液, 用 PBS 清洗细胞一次;
- 2) 添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 1ml 至培养瓶中, 倒置显微镜下观察, 待细胞回缩变圆后加入 5ml 完全培养液终止消化, 再轻轻吹打细胞使之脱落, 然后将悬液转移至 15ml 离心管中, 1000rpm 离心 5min;
- 3) 弃上清, 沉淀细胞用 1-2ml 完全培养基重悬, 然后按 1:2 比例进行分瓶传代, 最后放入 37℃, 5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养;

### 2、细胞冻存:

- 1) 细胞生长至覆盖培养瓶的 80%面积时, 弃 25cm<sup>2</sup> 培养瓶中的培养液, 用 PBS 清洗细胞一次;
- 2) 添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 1ml 至培养瓶中, 倒置显微镜下观察, 待细胞回缩变圆后加入完全培养液终止消化, 轻轻吹打细胞使之脱落, 然后将悬液转移至 15ml 离心管中, 1000rpm 离心 5min;
- 3) 用适量的冻存液 (FBS: DMSO=9 : 1) 重悬细胞, 并放置于冻存管中;
- 4) 先将细胞冻存管放置于-20℃ 1.5h, 然后将其移入-80℃过夜, 24h 后转入液氮中进行长期保存。使用程序降温盒可直接放入-80℃。

### 3、细胞复苏:

- 1) 从液氮中取出细胞冻存管（注意：佩戴防爆管面具），快速将其置入 37℃ 水浴中解冻，直至冻存管中无结晶，然后用 75% 的酒精擦拭冻存管外壁；
- 2) 将冻存管中的细胞移至含 6ml 完全培养基的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；
- 3) 弃上清，沉淀用 6ml 完全培养基重悬，接种 25cm<sup>2</sup> 培养瓶，于 37℃，5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。

使用范围：本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病治疗产品使用。

发表【中文论文】请标注：由上海名劲生物科技有限公司提供；

发表【英文论文】请标注：From Shanghai Mcellbank Biotechnology Co., Ltd.

销售电话：021-57645615  
销售邮箱：[sales@mcellbank.com](mailto:sales@mcellbank.com)  
技术支持：13162438938(微信同号)  
QQ 客服：2648601466  
官网网址：[www.mcellbank.com](http://www.mcellbank.com)

