

## NHDF

Cat.No : M-C1286



### 【贴壁生长】

**培养条件:** DMEM(高糖) +15% FBS+1% P/S

**培养环境:** 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。

**温度:** 37°C, 培养箱湿度 70%-80%。

**冻存条件:**90%FBS, 10%DMSO 现配。

### 【注意事项】

1. 瓶内培养基不能继续使用, 请更换新鲜培养基;
2. 收到第一次传代比例建议 1:2 ,之后可根据细胞密度和增殖情况适当调整。

## 收到处理方法

### T25 培养瓶

收到细胞后检查外包装及细胞培养瓶是否完好, 如有破损漏液等问题, 请即时联系。正常请进行以下操作:

1. 75%酒精棉球擦拭 T25 细胞培养瓶外部。
2. 将细胞放入 37 度培养箱中预温 3-4 小时后再做处理, 以稳定细胞状态。
3. 显微镜观察细胞生长情况, 并对细胞进行不同倍数拍照保存 (40×, 100×, 200×各一张) 前三天照片为重要售后依据, 不提供或未拍照默认收到状态良好。

**4. 贴壁细胞:** 若细胞密度低于 80%, 无菌操作去掉培养基。加入准备的 5-6ml 培养基放 37 度培养箱培养, 待细胞密度达到 80%以上进行传代。密度 80%以上, 可以将细胞传代处理。

**悬浮细胞:** 将瓶内所有培养基离心收集, 重悬计数根据密度进行分瓶, 密度在  $3-5 \times 10^5$ /ml 为宜。

### 2ml 冻存管

收到细胞后, 检查外包装情况和箱内是否还有干冰。如有外包装破损干冰已完全挥发等问题, 请即时联系。正常请进行以下操作: 将细胞取出转移至液氮保存或 -80 度冰箱 (不超过一周), 建议尽早复苏。复苏第一管后有活性状态问题及时与我们联系, 会有技术人员与您沟通 指导后再复苏第二管。特别说明: 两管一次性复苏出现问题不做售后。

### 15ml 离心管

75%酒精棉球擦拭 15ml 离心管外部去封口膜, 将 15ml 细胞悬液均匀接种到 2 个 T25 规格培养瓶, 第二天 观察细胞状态, 根据密度进行换液或分瓶。

## 【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。



FOR RESEARCH USE ONLY

发表【中文论文】请标注：由上海名劲生物科技

技术有限公司提供；

发表【英文论文】请标注：From Shanghai

Mcellbank Biotechnology Co., Ltd.



销售电话：13764978708(微信同号)

销售邮箱：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)

## 培养说明

### 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；

### 传代：

#### 贴壁细胞：

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；

#### 悬浮细胞：

待细胞达到一定密度（不超过  $1 \times 10^6$  /ml）可按照以下方法换液培养或传代。

方法①：收集细胞，1000rpm 离心 5min，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: 3 的比例分到新的含培养基的新皿中或者瓶中。

方法②：可选择半数换液方式，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 的比例分到新的含培养基的新皿中或者瓶中。

### 冻存：

1. 收集细胞用适量的冻存液（FBS: DMSO=9 : 1）重悬细胞，并放置于冻存管中；
2. 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℃。