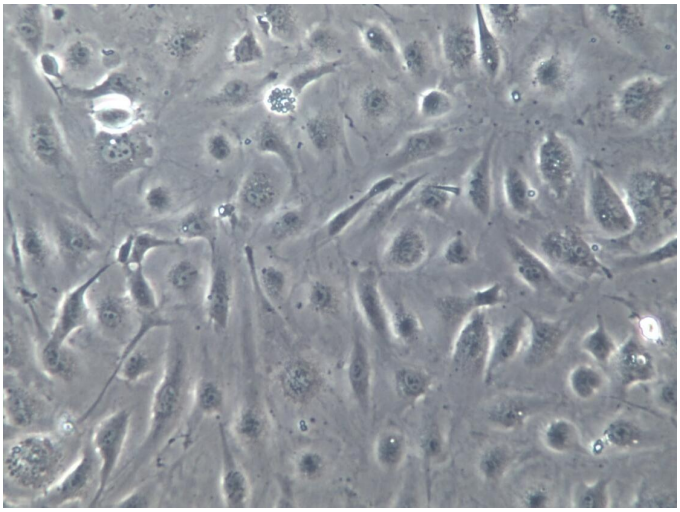
人主动脉内皮细胞永生化

Cat.No：M-C1302



【贴壁生长】

培养条件: 专用培养基

培养环境:空气，95%；二氧化碳，5%

温度：37℃，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 3-5x10^5/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

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 25cm2 培养瓶，于 37℃，5%CO2 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^2 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%CO2 细胞培养箱中培养；

悬浮细胞：

待细胞达到一定密度（不超过 1x10^6/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℃。