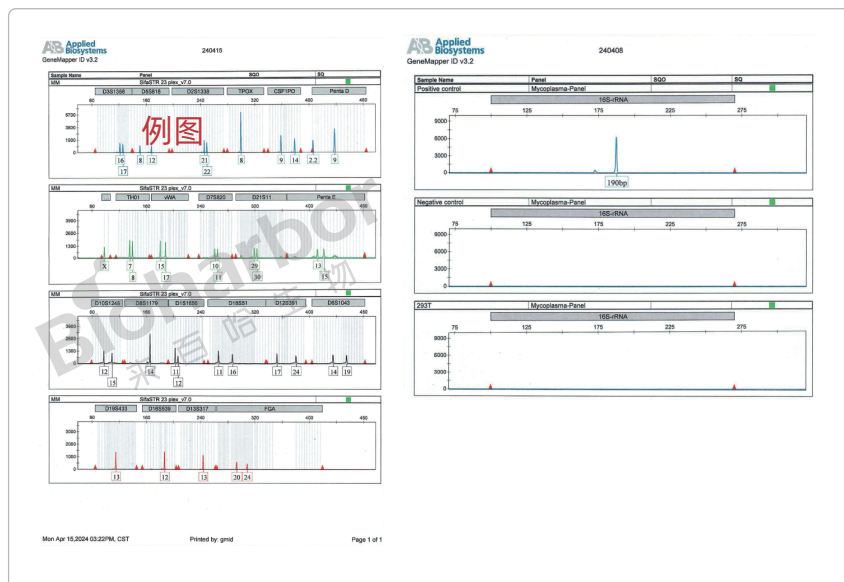


生长特征: 贴壁, 悬浮混合生长

小鼠肺癌细胞红色荧光
LLC+RFP



细胞接收处理流程 Cell Reception Processing Flow

- 1 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。
 - 2 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。
 - 3 镜下观察：未超过80%汇合度时，可将瓶装的完全培养液收集至离心管中，重新加入6ml完全培养基，放入37℃、5%CO₂培养箱培养；超过80%汇合度时，根据情况传代或者冻存。
 - 4 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**：若发货的是密封培养瓶，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）

细胞培养步骤 Cell Culture Steps

- 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。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。

贴壁细胞，传代可参考以下方法：

- 步骤一**：弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。
- 步骤二**：加1-2mL消化液（0.25%Trypsin-0.53mMEDTA）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。
- 步骤三**：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。
- 步骤四**：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。

悬浮细胞，传代可参考以下方法：

- 步骤一**：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。
- 步骤二**：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，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。
- 步骤三**：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 Special Cell Precautions

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（1200rpm3-5min）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（1200rpm3-5min）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（1200rpm3-5min）去除胰酶；
- 5 加入5mL左右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，待细胞生长稳定后再消散细胞。