

猴胚胎肾上皮细胞(marcl45)

细胞特性

- 1) 来源: 肾
- 2) 含量: $>1 \times 10^6$ 个/mL
- 3) 污染: 支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 4) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

运输和保存: 可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式: (1)干冰运输, 收到后立即转入液氮冻存或直接复苏; (2)存活细胞, 收到后应继续生长, 传代达到细胞生长状态良好时, 再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

细胞用途: 仅供科研使用。

细胞培养步骤

1) 培养基及培养冻存条件准备:

1. 准备 D/F12 培养基(D/F12, GIBCO,货号 C11330500BT);北美胎牛血清(United States, GIBCO, 货号 16000-044), 10%;双抗 1%。
2. 培养条件: 气相: 空气, 95%;二氧化碳, 5%。温度: 37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。
3. 冻存液: 90%血清, 10%DMSO, 现用现配, 液氮储存。

2) 细胞处理:

1. **复苏细胞:** 将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37° C 水浴中迅速摇晃解冻, 离心管加入 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4-5 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入 T25 培养瓶中培养, 补加培养基至 6ml。

2. **细胞传代:** 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

对于贴壁细胞, 传代可参考以下方法:

弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。力口 1m | 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mMEDTA)于培养瓶中, 置于 37° C 培养箱中消化 1-2 分钟, 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 2ml 完全培养基 终止消化。轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 5 分钟, 弃去上清液, 加 1-2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1:2 到 1:5 比例分到新的含 6ml 培养基的新皿中或者瓶中。

细胞冻存: 待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。

下面 T25 瓶为例:

1.细胞冻存时, 弃去培养基后, PBS 清洗瓶底 1-2 次后加入 1ml 胰酶, 细胞变圆脱落后, 加入 2ml 完全培养基终止消化, 可使用血球计数板计数。1000RPM 离心 5 分钟去掉上清。用血清重悬浮, 加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀, 按每 1ml 的数量分配到冻存管中, 注意冻存管做好标识。本公司按每个冻存管细胞数目大于 1×10^6 个细



胞冻存。将冻存管置于程序降温盒中，放入-80 度冰箱，至少 2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

注意事项：

收到细胞后，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方可丢弃。