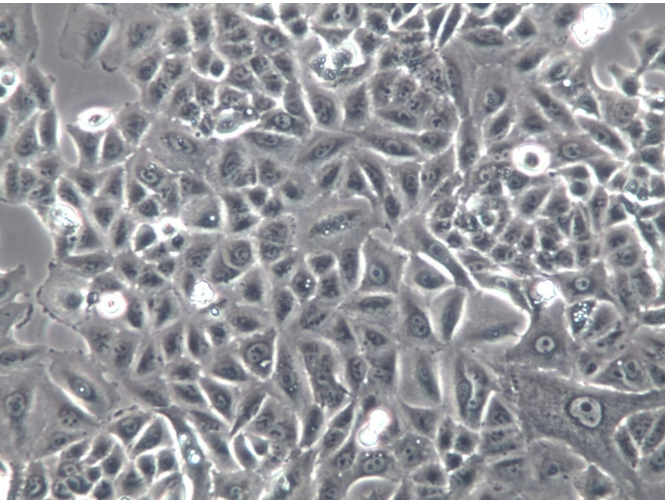


和增殖情况适当调整。

## A549/DDP

Cat.No: M-C5004

### 收到处理方法



#### 【悬浮生长】

**培养条件:** RPMI-1640+10%FBS+1%P/S+

1ug/ml DDP

**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

#### 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  $3-5 \times 10^5/\text{ml}$  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: 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

## 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, 再轻轻敲打细胞使之脱落, 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. 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, 轻轻敲打细胞使之脱落, 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℃。