公司产品仅供科研研究使用不得用于临床诊断！

1、**细胞传代：**

1）细胞生长至覆盖培养瓶的 80%面积时，弃 25cm2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；

2、**细胞冻存：**

1）细胞生长至覆盖培养瓶的 80%面积时，弃 25cm2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）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℃。

3、细胞复苏：

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；