

## 细胞培养说明书

细胞名称	P19; 小鼠畸胎瘤细胞 (Cat. No:CC-Y2073)
生长特性	贴壁
培养条件	MEM $\alpha$ +10%FBS+1%P/S (Cat.No:CC-Y2073M)
培养环境	37°C 5% CO <sub>2</sub> , 95% AIR
传代比例	1:2 传代, 2~3 天换液
冻存条件	90%FBS+10%DMSO
QC 检测	支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性

### 1、细胞传代:

- 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°C, 5%CO<sub>2</sub> 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 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°C 1.5h, 然后将其移入 -80°C 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°C。

### 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°C 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°C, 5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养;