



鸡巨噬细胞 HD11

培养说明书

一、细胞培养条件

细胞名称	鸡巨噬细胞 HD11		
生长特性	贴壁生长	冻存条件	无血清冻存液
培养体系	DMEM/F12+10%FBS+1%	平台编号	bio-51640
双抗传代方法	第一次建议 1:2 传代	传代情况	2 天换液
备注	该细胞贴壁性差，补液不要冲到细胞层，1-2 天换液，90%以上汇合度传代用无菌离心管收集瓶子培养基，留作过渡对比培养如果对比培养效果不好，建议直接购买我们的完全培养基		

二、细胞收到后处理

培养至良好状态后灌满完全培养液并封好瓶口是运输细胞的最好办法。收到细胞用 75% 酒精喷洒整个细胞瓶，消毒后放到超净台内**严格无菌操作**，将细胞瓶放入 37℃、5%CO₂ 的培养箱中静置 3-4 小时以稳定细胞状态后再做处理。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（最好 40x,100x,200x 各一张），前三天照片是重要售后依据，不提供照片默认收到状态良好。（传代后建议一瓶用原瓶的完全培养基，另外一瓶用自己配的完全培养基，以便进行对比培养，换液后将盖子拧松）

三、细胞培养步骤

a、细胞传代：如果未超过 80%汇合度时，将瓶装的完全培养液收集至离心管中，留 5ml 完全培养基，放入 37℃、5%CO₂ 孵箱培养；如果细胞密度超 80%，即可进行传代培养，传代具体步骤如下：

1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
2. 添加 1-2ml 消化液（0.25%胰蛋白酶-0.53mMEDTA）至培养瓶中，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 以上完全培养基终止消化。
3. 轻轻吹打细胞，使之完全脱落后吸出，然后将悬液转移至 15ml 离心管中，在 1000RPM 条件下离心 5 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 完全培养基重悬。
4. 将细胞悬液按 1: 2 的比例进行分瓶传代（两个 T25 瓶），补充新的完全培养基至 5-8ml/瓶，最后放入到 37℃、5%CO₂ 的细胞培养箱中培养。

b、细胞冻存：

- 1、细胞生长至覆盖培养瓶的 80%面积时，弃 T25 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，沉淀细胞加入 1ml 的雅吉生物无血清冻存液（货号：C7001），混匀后加入冻存管中。
- 4、将冻存细胞直接放入-80℃冰箱即可，如后期要将细胞转入液氮罐中，则需在-80℃冰箱中存放 24 小时以上再转入液氮罐中。



C、细胞复苏：

- 1、从液氮中取出细胞冻存管（注意佩戴防护面具），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 5ml 完全培养基的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；
- 3、弃上清，沉淀用 5ml 完全培养基重悬，接种至 T25 培养瓶，放于 37℃,5%CO₂ 细胞培养箱中培养；
- 4、第二天，换用新鲜完全培养基继续培养。

四、注意事项：

有些细胞贴壁不牢，在运输过程中容易发生细胞脱落，这是正常现象。可按此方法：将培养瓶所有培养液收集至离心管，1000rpm 离心 5min，收集上清作过渡培养（后期对比培养），沉淀加入胰酶 1-2ml，轻轻吹打，重悬，消化 1-2 分钟后，加 5ml 完全培养基终止反应。再离心，弃上清，加 1-2ml 完全培养基重悬。然后按 1:2 比例进行分瓶传代（两个 T25），补充新的完全培养基至 5-8ml/瓶，最后放入 37℃,5%CO₂ 细胞培养箱中培养。

五、售后条款：

1) 细胞出现问题，可重发的情况有哪些？判定标准是什么？

- 1.细胞运输途中遭遇的各种问题，细胞丢失、瓶身破损、培养液严重漏液等，重发；
- 2.细胞污染问题，请在收到产品 48 小时内，给我们提出真实的实验结果，核实后重发；
- 3.常温发货的细胞静置 24 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏后 24 小时后，绝大多数细胞未存活，（需提供真实清晰的细胞状态照片），重发；
- 4.干冰冻存发货的细胞复苏后 24 小时后或常温发货的细胞静置 4 小时并且未开封，出现污染，重发；
- 5.细胞活性问题，请在收到产品 7 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，核实后予重发；
- 6.细胞收到当天以及第 2,3 天请拍照，3 天未告知的，视为产品合格。4-7 天内出现问题有提供收到细胞前 3 天照片和细胞出现问题时照片以及细胞相关操作的详细步骤的，并跟技术人员沟通的，由技术人员判定为我方责任的，重发。技术人员判定为双方承担责任的由双方进行协商处理或者按合同价的 50%收费重发。

2) 细胞出现问题，不予以重发的情况有哪些？

- 1.客户造成细胞污染，不重发；
- 2.客户不正确操作致细胞状态不好，不重发；
- 3.非本库推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发；
- 4.细胞状态不好，未提供细胞培养前 3 天照片的，不重发；
- 5.细胞培养时经其它处理的，不重发；
- 6.细胞收到 2 天内，未告知，不重发；
- 7.视具体情况而定。