



细胞培养条件

英文名称	VK2/E6E7	中文名称	人阴道上皮细胞
平台编号	bio-68277		
生长特性	贴壁生长	冻存条件	无血清冻存液
培养体系	DMEM+10%FBS+1%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	用无菌离心管收集瓶子培养基，留作过渡培养		

二、细胞收到后处理

细胞在培养瓶中培养至良好状态后灌满完全培养液并封好瓶口是细胞运输的最好办法。收到细胞回到自己的实验室后，先打开外包装，用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到超净台内，严格无菌操作，培养箱静置 2-4 小时。镜下观察：未超过 80%汇合度时，可将瓶装的完全培养液收集至离心管中，加入 6ml 完全培养基，放入 37℃、5%CO₂ 孵箱培养；超过 80%汇合度时，根据情况传代或者冻存，具体操作见细胞培养步骤。（注意发货的是密封培养瓶的话，放入培养箱培养记得培养瓶盖拧松）

三、细胞培养步骤

1) 复苏细胞：将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻，加入 5mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 5 分钟，弃去上清液，补加 4-6mL 完全培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 6cm 皿中），培养过夜。第二天换液并检查细胞密度。

2) 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

1、对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
2. 加 1-2ml 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，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 以上含 10%血清的完全培养基终止消化。
3. 轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出，在 1000RPM 条件下离心 8-10 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL 培养液后吹匀。
4. 按 5-6ml/瓶补加培养液，将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新的含 5-6 ml 培养液的新皿中或者瓶中。

PS：若客户收到 2ml 小管细胞，收到细胞后，用 75%酒精喷洒整个管子消毒后放到超净台或安全柜内，严格无菌操作；将小管细胞转移至 T25 培养瓶或 6cm 培养皿，加入 5ml 左右完全培养基混匀，放入培养箱过夜培养后查看细胞密度：若密度未超过 80%，换液继续培养，视情况传代或者冻存。若密度超过 80%，可直接进行传代（方法同上）。

3) 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℃。