



客户收到细胞后，请按照以下方法进行操作：

- 取出T25细胞培养瓶，用75%酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入37°C、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱
- 中静置3-4 h，以稳定细胞。
- 贴壁细胞消化
  - 1) 吸出T25细胞培养瓶中的培养基，用PBS清洗细胞一次；
  - 2) 添加0.25%胰蛋白酶消化液1 mL至T25培养瓶中，轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后，吸出多余胰蛋白酶消化液，37°C温浴1-3 min；倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5 mL完全培养基终止消化；
  - 3) 用吸管轻轻吹打混匀，按传代比例接种T25培养瓶传代，然后补充新鲜的完全培养基至5 mL，置于37°C、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养；
  - 4) 待细胞完全贴壁后，培养观察，用于实验；之后再按照换液频率更换新鲜的完全培养基。
- 细胞实验

因原代细胞贴壁特殊性，贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿（如玻璃爬片、培养板、共聚焦培养皿等）时，需要对实验器皿进行包被，以增强细胞贴壁性，避免细胞因没贴好影响实验；包被条件常选用鼠尾胶原 I (2-5 µg/cm<sup>2</sup>)，多聚赖氨酸PLL (0.1 mg/mL)，明胶 (0.1%)，依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

#### 四、注意事项

- 培养基于4°C条件下可保存3个月。
- 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。
- 消化过程中，胰酶消化时间不宜过长，否则会影响细胞贴壁及其生长状态。
- 建议客户收到细胞后前3天每个倍数各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和普诺赛技术部沟通；由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，详尽告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪、回访直至问题得到解决。
- 该细胞只可用于科研。

备注：由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同，以上方法仅供各实验室参考

