

# 细胞培养

## 一、实验材料

试剂名称	试剂厂家	试剂货号
青链霉素	合肥知恩生物	ZNCA-008
胰蛋白酶	合肥知恩生物	ZNCA-009
胎牛血清	合肥知恩生物	ZNCA-007
Opti-MEM	Gibco	31985-070
L15	合肥知恩生物	ZNCA-006
RPMI-1640	合肥知恩生物	ZNCA-002
DMEM	合肥知恩生物	ZNCA-001
MEM	合肥知恩生物	ZNCA-003
DMEM/F-12	合肥知恩生物	ZNCA-005
NEAA 非必需氨基酸 10(100x)	赛百慷	iCell-01000
丙酮酸钠溶液 100mM	赛百慷	iCell-01100
L-谷氨酰胺	赛百慷	iCell-0900
F12	赛百慷	iCell-0006
F12K	赛百慷	iCell-0007
IMDM	赛百慷	iCell-0008
McCoy's 5A	赛百慷	iCell-0011
M199	赛百慷	iCell-0010

## 二、实验仪器

仪器名称	仪器厂家	仪器型号
超净工作台	苏州安泰	SW-CJ-2FD
显微镜	江南永新	XD202
CO2 培养箱	Thermo	3111

## 三、实验方法

正常方法培养细胞，完全培养基为基础培养基添加 10%FBS 和 1%PS（青-链霉素）或其它添加剂。

1. 准备：在细胞传代前，需要准备好无菌的培养瓶、离心管、移液管、枪头等实验材料，并放入无菌超净工作台中进行紫外线照射消毒。同时，要在显微镜下观察细胞形态，确定细胞是否需要传代以及细胞需要稀释的倍数。
2. 消化：从培养箱中取出待传代的细胞，用 75%的酒精对瓶口进行消毒，然后吸掉旧的培养基。使用 PBS 缓冲液洗去残留的旧培养基，之后加入适量的胰酶进行消化，消化时间根据细胞的特性而有所不同。在显微镜下观察，当细胞变圆且大部分细胞脱落后，加入含血清的培养基终止消化。

3. 离心：将消化后的细胞悬液转移到离心管中，进行离心以去除上清液和细胞碎片。离心后弃去上清液。
4. 重悬与接种：向离心管内的细胞沉淀中加入适量的新鲜培养基，吹打混匀，制备成细胞悬液。然后将细胞悬液接种到新的培养皿、培养板、或培养瓶中，放入培养箱中进行培养。