

## 人原代骨髓肥大细胞

种属	人	组织来源	人的骨髓组织
传代比例	1:2 传代	平台编号	bio-132421
完全培养基配置	基础培养基 500ml; 生长添加剂 5ml; 胎牛血清 50ml; 双抗 5ml		
生长特征	悬浮生长	形态特征	圆形或卵圆形细胞样
换液频率	2-3 天换液一次		
倍增时间	该细胞终末分化细胞增殖能力很弱		
冻存条件	冻存液: 90%FBS, DMSO 10%,或使用非程序冻存液		
培养条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。温度: 37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。		
细胞检测	CD117 免疫荧光染色为阳性免疫荧光鉴定, 细胞纯度可达 90%以上, 不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。		
细胞背景	肥大细胞 (Mastcell,MC) 是和血液的嗜碱粒细胞一样, 具有强嗜碱粒颗粒的组织细胞, 细胞核小, 位于细胞中央。		
产品使用	仅限于科学研究, 不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用		

**细胞接收处理流程:**

- 1: 观察有无破损漏液情况, 如有请拍照及时联系客服。
- 2: 酒精消毒培养瓶表面后显微镜下观察细胞状态, 观察拍照后不用打开培养瓶盖放入培养箱静止 2-3 小时稳定细胞状态。
- 3: 请按照细胞操作指南进行第一次传代冻存处理。
- 4: 产品随货会附带细胞说明书、细胞培养操作指南、细胞鉴定、支原体检测报告。
- 5: 若产品有异常或其他疑问, 可随时联系客服; 转至技术支持。

**常温细胞收货当天处理方式**

1. 收到常温细胞后, 及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象。
2. 镜下观察有无微生物污染现象, 拍照记录不同倍数镜下细胞状态和有无染菌现象, 方便后续售后处理。
3. 消毒后, 更换赠送的完全培养液放置培养箱静止 2-3 小时。如细胞有少数悬浮细胞需要离心收集重新接种至培养瓶。
4. 观察细胞密度若超过 80%则可正常传代处理(有的原代细胞不可传代, 请根据实际情况决定), 首次传代推荐比例 1: 2 到 1: 3 (按实际收货细胞密度决定, 若不确定可联系技术支持); 若细胞密度不到 80%则可继续培养, 注意拧松瓶盖或更换透气瓶盖; 悬浮细胞注意离心所有培养基以收集细胞。
5. 由于气温, 运输等影响造成贴壁细胞漂浮的, 请将细胞离心收集后在离心管中消化后进行传代(参考附件), 或及时联系技术支持进行指导传代。

**贴壁细胞传代:**

1. 从培养容器中吸出用过的细胞培养基并丢弃;
2. 从与贴壁细胞层相对的容器一侧轻轻加入冲洗液以避免搅动细胞层, 前后摇晃容器数次
3. 从培养容器中吸出冲洗液并丢弃, 向培养瓶中加入预热的胰酶; 胰酶量应足以覆盖细胞层 (T25 为 1ml);
4. 将培养容器在室温下孵育约 2 分钟 (请注意实际孵育时间根据所用细胞系不同而有所差



异)：

5. 在显微镜下观察细胞解离情况；如果解离程度未达 90%，可将孵育时间延长几分钟，每 30 秒钟检查一次解离情况；

6. 细胞解离程度大于等于 90%时，倾斜培养容器，使细胞上液体尽快流尽；加入所用解离剂两倍体积的预热完全生长培养基；吹打细胞层表面数次，使培养基分散；

7. 将细胞转移到 15mL 无菌离心管中，以  $200\times g$  的离心力离心 3-5 分钟（请注意离心速度和时间依细胞种类不同而有所差异）；

8. 用最少体积的预热完全生长培养基重新悬浮细胞沉淀，将细胞悬液按照推荐比例稀释，并将适量体积的细胞悬液转移到新的细胞培养容器中，把细胞放回培养箱（注：如果使用培养瓶，将其放入培养箱前应将瓶盖旋松，以便进行充分的气体交换，除非您使用的是通气式培养瓶和透气性瓶盖）。

**悬浮细胞传代：**将 T25 培养瓶中的悬液收集至离心管中 1000rpm 离心 5min，收集上清，加 1-2ml 完全培养基重悬，按 1:2 比例进行比例传代分到新 T25 瓶中，补充 5-8ml/瓶新的完全培养基，最后放入细胞培养箱中培养。