

猫肾细胞 CRFK

种属	猫	别称	CrFK;Crfk;CrandellReeseFelineKidney;CrandellFelineKidney;CCC;Crandell'sCatCell
组织来源	肾脏, 皮质肾, 皮层;	传代比例/细胞消化	1:2 传代, 消化 2-3 分钟
平台编号	bio-73011	完全培养基配置	MEM (ATCC 改良) 培养基; 10% 胎牛血清; 1% 双抗
倍增时间	每周 2 至 3 次	形态/生长特征	上皮细胞样; 贴壁生长
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%。		
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		
其他机构	KCBATCC;CCL-94KCB2006104YJ		

T25 细胞到货处理观察:

1、收到细胞后, 请及时核对培养瓶上标注的细胞名称是否与订购的细胞名称一致以及培养瓶是否有破损或漏液等异常情况。

2、处理:

1、75%酒精棉球擦拭 T25 细胞培养瓶外部。

2、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 (40x, 100x, 200x 各一张) 前三天照片为重要售后依据, 不提供照片默认收到状态良好。

3、不要打开培养瓶盖, 将细胞放入 37 度培养箱中静置 3-4 小时后再做处理, 以稳定细胞状态。

4、收到细胞后, 及时查看说明书是贴壁细胞还是悬浮细胞形态, 并按常规贴壁或悬浮细胞的传代方法操作。

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）。

细胞复苏

- 1、从液氮中取出细胞冻存管（注意：佩戴防爆管面具），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 T25 培养瓶，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。

细胞传代

- 1、方法一：收集细胞悬液，至离心管中 1000rpm 离心 5min，弃上清，加 1-2ml 完全培养基重悬，按 1: 2 的比例进行分瓶传代，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。
- 2、方法二：可选用半换液方式，将 T25 瓶子竖起来，轻轻拍打两下，在培养箱静置 10 分钟，肉眼可见大部分细胞沉在底部，轻轻吸去半数培养基后，将剩余细胞悬起，将细胞悬液按 1: 2 比例分瓶，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。细胞冻存 1、细胞生长至覆盖培养瓶的 80%面积时，将 T25 培养瓶中的悬液收集至离心管中 1000rpm 离心 5min；2、弃上清，沉淀细胞加入 1ml/支的无血清冻存液，混匀后加入冻存管中。（如：冻一支，加入 1ml 无血清冻存液即可）3、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，需在 -80℃ 冰箱存放 24 小时以上。