



人膜间皮细胞(MeT-5A)

细胞特性

- 1) 来源: 间皮
- 2) 形态: 上皮细胞样, 贴壁生长
- 3) 含量: $>1 \times 10^6$ 个/mL
- 4) 污染: 支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

胞接受后的处理:

1. 收到细胞后, 请检查是否漏液, 如果漏液, 请拍照片发给我们。
2. 请先在显微镜下确认细胞生长状态, 去掉封口膜并将 T25 瓶置于 37°C 培养约 2-3h
-
3. 弃去 T25 瓶中的培养基, 添加 6ml 本公司附带的完全培养基。
4. 如果细胞长满 (90%以上) 请及时进行细胞传代, 传代培养用 6ml 本公司附带的完全培养基。
5. 接到细胞次日, 请检查细胞是否污染, 若发现污染或疑似污染, 请及时与我们取得联系。

细胞用途: 仅供科研使用。

本公司的细胞培养操作规程, 供参考 1) 培养基及培养冻存条件准备:

1. 准备 Medium 199 培养基(添加 NaHCO_3 1.5g/L, 3.3 nM EGF, 400 nM 氢化可的松, 870 门 1V1 牛胰岛素, 20 阳 1V11[^]?£5, 3.87 呢八 1"1256○3), 90%;优质胎牛血清, 10%。
2. 培养条件: 气相: 空气, 95%;二氧化碳, 5%。温度: 37°C , 培养箱湿度为 70%-80%。
3. 冻存液: 90%血清, 10%DMSO, 现用现配。液氮储存。

2) 细胞处理:

复苏细胞: 将含有 1mL 细胞悬液的冻存管迅速放入 37°C 水浴中 (水面要低于冻存管盖部) 摇晃解冻, 移入事先准备好的含有 4mL 培养基的 15ml 离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 加入 1mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液移入含有 5ml 培养基的培养瓶中培养过夜。第二天换液并检查细胞密度。

细胞传代: 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

对于贴壁细胞, 传代可参考以下方法:

弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。力口 2m | 消化液 ($0.25\% \text{ Trypsin}$ - 0.53mMEDTA)于培养瓶中, 置于 37°C 培养箱中消化 1-2 分钟, 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入 3ml 此细胞的培养基终止消化。轻轻吹打后吸出, 移入 15ml 离心管中, 在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 加入 1mL 培养液后吹匀。移入到事先准备好



的含有 5ml 培养基的 T-25 培养瓶中含有 14ml 培养基的 T-75 培养瓶中培养。

细胞冻存 待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，先要消化处理并进行细胞计数。消化方法按照细胞传代方法的 1-3 步骤进行，最后的重悬液使用血清。悬浮细胞直接计数后离心，用血清重悬浮，加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀，按每 1ml 的数量分配到冻存管中。本公司按每个冻存管细胞数目大于 1×10^6 个细胞冻存。

注意事项：

收到细胞后，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。