

的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。

二、细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

三、使用方法

兔羊膜成纤维细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈成纤维细胞样，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞可传3代左右；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

客户收到细胞后，请按照以下方法进行操作。

1. 取出T25细胞培养瓶，用75%酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入37℃、5%CO₂、饱和湿度的细胞培养箱中静置3-4h，以稳定细胞状态。

2. 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1mL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℃温浴1-3min；倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5mL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5mL，置于37℃、5%CO₂、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。

3. 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（2-5 μg/cm²），多聚赖氨酸PLL（0.1mg/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

1. 培养基于4℃条件下可保存3个月。

2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。

3. 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。

4. 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。

5. 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

