

RKO

产品：人结肠癌细胞

货号：SL773

种属：人

组织：肠

形态：上皮细胞样，贴壁生长

规格：T25 培养瓶或 1 ml 冻存管包装

培养条件：EMEM+10%FBS

解冻和复苏

- 1) 从液氮中取出冻存管，立刻放至 37℃ 水浴锅，在水浴锅中不间断地晃动冻存管。等到细胞差不多全部溶解（还有一点冰）取出，用 70% 酒精擦拭冻存管。
- 2) 将解冻的细胞转移至含有 5~10 ml 预热的完全培养基的 15 ml 或 50 ml 离心管中。轻柔吹打混匀（2~3 次）。
- 3) 离心，300 x g，5 min。小心去掉上清。
- 4) 轻拍离心管使细胞沉淀松散。加入 8~10 ml 完全培养基，轻柔吹打使细胞悬浮。
- 5) 将细胞转移至 T75 培养瓶或者相应的培养容器。于 37℃，5%CO₂ 的湿式恒温培养箱培养。

注意：

- a. 冻存的细胞中含有 DMSO，DMSO 对细胞有毒性，必须在培养之前去掉。如果没有去掉 DMSO，细胞会大批量死亡。
- b. 接到已复苏的细胞后请在显微镜下观察细胞状态，如细胞状态良好，即可使用及处理。如细胞破裂较多，请更换新鲜培养基并放置 CO₂ 培养箱 2~5 h 或过夜。

细胞传代

如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

- 1) 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
- 2) 加 1ml 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于 37℃ 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少量培养基终止消化。
- 3) 按 6-8ml/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 300 x g 条件下离心 5 分钟，弃去上清液，补加 1-2ml 培养液后吹匀。
- 4) 将细胞悬液按 1：3 到 1：12 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。
- 5) 每天观察细胞状态，供进一步实验用。

传代比例：推荐以 1:3 ~ 1:12 的最终密度传代

换培养基：每隔 2~3 天

冻存液：完全培养基和 5%（v/v）DMSO

储存温度：液氮