

## (KMML1)小鼠肺成纤维细胞

### 基本信息

细胞名称	(KMML1)小鼠肺成纤维细胞
细胞编号	ml-CC2001
细胞品牌	酶联生物
细胞简介	该小鼠肺成纤维细胞由酶联生物科技有限公司制备并提交,可用于基础研究和科研使用
细胞规格	1×10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶
细胞英文	MML1
种属来源	昆明小鼠
组织来源	肺
支原体检测	阴性
细胞形态	成纤维细胞样
生长特性	贴壁生长
生长条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%; 温度: 37°C
传代方法	1 : 2 至 1 : 6, 每周 2 次
培养基	DMEM (内含 2mM L-glutamine) +10%胎牛血清(FBS)

冻存条件	90% 完全培养基+10% DMSO, 液氮储存
发货方式	快递运输(特殊情况的另处理)
供应范围	仅限于科研实验使用, 不得用于其他用途

## 细胞培养操作

### T25 瓶

#### 收货处理：

观察好细胞状态后, 75%酒精消毒瓶壁, 将 T25 瓶置于 37 度培养箱放置 2-4h, 以便稳定

细胞状态

#### 传代密度：

细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养

#### 传代比例：

首次传代建议 1: 2 传代, 1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿

#### 传代方法：

- a、弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
- b、加 1 mL 消化液 (0.25%Trypsin-0.02% EDTA) 于培养瓶中, 使消化液浸润所有细胞, 将培养瓶置于 37°C培养箱中消化 2-5 min (视细胞情况而定), 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 2-3ml 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中, 1000 rpm 离心 5 min, 弃去上清液, 补加 1-2 mL 培养液后吹匀。
- c、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中置于培养箱中培养。

**注意事项：**

1. 运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。
2. 因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。

**冻存管****收货处理：**

到细胞后，需立即转入液氮冻存或直接复苏

**传代密度：**

第二天换液并检查细胞密度

**传代比例：**

一管细胞建议接种到 10cm 培养皿或者 T25 瓶

**传代方法：**

将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL 培养基混合均匀。

在 1000 rpm 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞

悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 6 cm 皿中，加入约 4 mL

培养基，培养过夜）第二天换液并检查细胞密度。

**注意事项：**

1. 收货时若发现干冰化完，检查冻存管是否融化，若已融化需直接离心细胞接种观察，若未融化可以将细胞按正常步骤保存。
2. 为保证细胞的高存活率，收到产品后，请立即解冻复苏细胞。

**细胞冻存操作**

**冻存液配方：**

无血清冻存液，液氮储存

**细胞密度：**

待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例

**冻存方法：**

- a、收集细胞及细胞培养液，装入无菌离心管中，1000 rpm 条件下离心 4 min，弃去上清液，用 PBS 清洗一遍，弃尽 PBS，进行细胞计数。
- b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度  $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}$ ，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。
- c、将冻存管放入  $-80^\circ\text{C}$  冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

**注意事项：**

冻存细胞转入液氮后及时复苏一管检查细胞冻存活性，若有异常，及时调整实验方案

**售后服务****细胞予重发**

1. 细胞运输中遭遇的各种问题，细胞丢失瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。
2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。
3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。
4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。
5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。

6. 细胞活性问题, 请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果, 用台盼蓝染色法鉴定细胞活力, 经核实后, 重发。

### 细胞不重发

1. 客户操作造成细胞污染, 不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好, 不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好, 不重发。
4. 细胞状态不好, 未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片, 不重发。
5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的, 不重发。
6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的, 不重发。

### 特别说明

客户买细胞就找[上海酶联生物](#), 稳定传代, 无污染, 包存活, 提供整体课题外包服务, 光学成像, 流式实验, 电镜实验, 动物实验, 病理实验, 分子生物学实验, 细胞实验等, 严格把控产品质量, 所有细胞产品均有细胞鉴别、无菌检查、支原体检查, 为科研人员提供可靠放心的产品。