



小鼠单核巨噬细胞(RAW264.7) (CAT#: JXC0005A)

使用说明书

细胞特性和培养所需试剂:

基础培养液	高糖 DMEM
完全培养液	高糖 DMEM (90%) + 胎牛血清 (10%) + 1% 双抗
冷冻保护剂	完全培养基占 (95%) + DMSO 占 (5%)
Pbs 缓冲液	0.01M PBS 缓冲液 (PH 7.2-7.4)
传代比例	1:3-1:6
生长特性	贴壁生长

一、细胞复苏和接种

- 1、37℃ 水浴预热培养液。
- 2、从液氮中取出细胞产品管，快速将其置入 37℃ 水浴中解冻，直到管中的冰晶完全溶解。（注意：不要让水没过产品管）。
- 3、轻轻吹打混匀细胞悬液后，取 10 μ l 细胞悬液和 10 μ l 台盼蓝混匀，取 10 μ l 计数。**这一步骤非常重要，能确定您收到的产品是否合格**
- 4、把细胞悬浮液全部移取到 15ml 无菌离心管中，里面加 9ml 完全培养液，混匀。
- 5、15ml 离心管在 125 $\times$ g 的离心力，室温条件下，离心 5-10 分钟，去除上清。
- 6、用 1ml 完全培养液重悬细胞沉淀，用移液枪全部转移到 T-75 培养瓶里。
- 7、每个培养瓶中加完全培养液 10ml，后置于 37℃、5%CO₂ 培养箱内培养。

二、细胞换液和培养



注意：复苏或传代后的细胞，请于 24 小时后，第一次更换培养液。

1、复苏后的细胞经 37℃、5%CO₂ 培养箱内培养 24 小时，此时细胞已完全贴壁，更换培养液后，请继续在 37℃、5%CO₂ 培养箱内培养。

2、之后，根据细胞密度每 2-3 天更换培养液 1 次，如果细胞生长旺盛，改为 1 天 1 次。至细胞长到培养瓶表面的 80% 可进行传代或冻存。

3、换液前，请将完全培养液从 4℃ 中取出，37℃ 水浴预热完全培养液。

三 、消化细胞

1、这个细胞不需要用到消化液，具体操作如下：

（1）先把旧的细胞液完全吸出来，弃掉。

（2）重新加入 3ml 新的完全培养液，轻轻的吹打，就可得到细胞悬浮液。

（3）必要时可以离心，在 125×g 的离心力，室温条件下，离心 5-10 分钟，弃上清。

（4）加入一定完全培养液，调整细胞数量后，抽样加入胎盘蓝计数，得到细胞数和活性后，按细胞数传代或冻存。

四 、细胞传代

1、消化细胞（详见第三步）

2、按照 1:3-1:6 的传代比例，平均传代到每个 T-75 培养瓶里。

3、每个 T-75 培养瓶加入 10ml 完全培养液，继续在 37℃、5%CO₂ 培养箱内培养。

五 、细胞冻存

1、消化细胞（详见第三步）

2、调整细胞数 $2-4 \times 10^6$ /ml，加入一定量的完全培养液。之后，配制等量的冷冻保护剂。



广州济恒医药科技有限公司 020-32290876 020-32290870

传真：020-32290873 QQ：1516514630

- 3、冷冻保护剂的配制：完全培养基占 95%，DMSO 占 5%。
- 4、将细胞悬液于冰浴中，逐滴加入冷冻保护剂，边滴加边摇动，加完后用轻轻吹打混匀。
- 5、在冰浴中，将细胞分装于冻存管中，每管 1ml 或 1.8ml。
- 6、将冻存管置于冻存盒内，放入-80℃冰箱中，24 小时后转入液氮中保存。

接收提示：

1. 请仔细检查外包装是否 破损， 冷冻的产品是否融化；如有异常，请立即联系我们。
2. 请将冷冻的产品放入 液氮 中保存，请不要放在-80 ℃ 冰箱中。
3. 培养瓶运输，请检查瓶身是 否破损, 是否有漏液，如有异常，请立即联系我们。
4. 请仔细将培养瓶用 75%的酒精擦两遍，将培养瓶里的培养液全部倒了，更换适量新的完全培养液，置于 37℃、5%CO₂ 培养箱内培养。