

细胞培养说明书

细胞名称	AtT-20 小鼠垂体瘤细胞	英文名称	AtT-20
形态特性	圆形，成串	生长特性	半贴半悬
种属	小鼠		
组织	垂体瘤		
培养体系	Ham's F-12K+15% HS+2.5% FBS 气相：空气，95%；CO ₂ ，5%。 温度：37℃		
背景	AtT20生长时不贴壁，而结成活细胞团。能抗脊髓灰质炎病毒。		
传代方法	建议第一次1:2传代		
冻存条件	推荐无血清冻存液		

一、细胞收到后处理

收到细胞后请第一时间观察拍照并严格按照以下要求进行操作（需遵照无菌操作要求）。

1: 到货后，观察瓶是否漏液并**拍照**。

2: 细胞瓶消毒，移入培养箱静置（**切勿静置过夜**）。3: 显微镜观察**拍照**，判断细胞密度和细胞漂浮情况。拆封口膜，消毒瓶口，移入安全柜

细胞在培养瓶中培养至良好状态后灌满完全培养液并封好瓶口是细胞运输的最好办法。收到细胞回到自己的实验室后，先打开外包装，用75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到超净台内，严格无菌操作。镜下观察：未超过80%汇合度时，可将瓶装的完全培养液移入废液缸中，悬浮细胞需离心处理，加入6ml新鲜完全培养基，放入37℃、5%CO₂孵箱培养；超过80%汇合度时，根据情况传代或者冻存，具体操作见细胞培养步骤。

二、细胞培养步骤

1) 复苏细胞：将含有1mL细胞悬液的冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻，加入5mL培养基混合均匀。在1000RPM条件下离心5分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入6cm皿中，加入约6ml培养基，培养过夜）。第二天换液并检查细胞密度。

2) 细胞传代：如果细胞密度达80%-90%，即可进行传代培养。

对于悬浮细胞，传代可参考以下方法：

方法一：收集细胞，1000RPM条件下离心8-10分钟，弃去上清液，补加1-2mL培养液后吹匀，将细胞悬液按1: 2到1: 5的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。

方法二：可选择半数换液方式，弃去半数培养基后，将剩余细胞悬起，将细胞悬液按1: 2到1: 3的比例分到新的含8ml培养基的新皿中或者瓶中。

3) 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，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，进行离心收集，1000RPM条件下离心8-10分钟，去除上清，按冻存数量加入血清及DMSO，冻存比例为90%FBS+10%DMSO。