



## SOP-CELL-001-细胞传代

### 1.使用工具:

显微镜	移液器	离心管板架	离心机
-----	-----	-------	-----

### 2.使用耗材:

培养基	5ml 离心管	枪头
胰酶	PBS	血清

### 3.实验过程:

- 3.1 将密度为 80%的细胞从培养箱取出
- 3.2 吸掉皿中原有培养基
- 3.3 加入 3mlPBS 缓冲液, 均匀摇晃皿, 使 PBS 可清洗到皿每个角落
- 3.4 洗掉清洗用的 PBS 缓冲液
- 3.5 加入 1ML 胰酶, 均匀摇晃皿, 使胰酶可均匀接触到皿每个角落
- 3.6 将加完胰酶已摇晃均匀的皿放回 37 度培养箱
- 3.7 消化一定时间 (一般为 1min 到 2min 之间), 取出细胞皿
- 3.8 将皿拿于左手, 用右手沿着皿壁轻轻拍打, 看到细胞有滑落即为消化好
- 3.9 上一步操作也可换为在显微镜下见细胞变圆即可
- 3.10 加入 2ml 相应培养基与 10cm 皿中终止消化
- 3.11 均匀摇晃已经加入终止液的细胞皿
- 3.12 使用 1ml 移液器, 对细胞进行吹打, 使其成为单细胞悬液
- 3.13 吹打结束后, 吸取全部液体到 5ml 离心管
- 3.14 将离心管标记好之后, 置于离心机中以 800RPM 离心 5min
- 3.15 离心结束后, 将离心管中上清倒去
- 3.16 加入 2ml 相应培养基重悬细胞使其成为单细胞悬液
- 3.17 以一定比例/数量将细胞分到皿/孔板中

### 4.注意事项

- 4.1 细胞一定要吹打为单个细胞悬液
- 4.2 对于 10cm 皿/6cm 皿/6 孔板, 要以米字形摇晃皿/板, 使其混合均匀
- 4.3 对于其他种类孔板切记不能摇晃, 要将细胞和所需培养基混匀之后再一次性加入, 加入之后不能摇晃, 轻轻放置于 37 度培养箱, 否则会造成细胞聚集在孔板中央