



## 细胞培养说明书

细胞名称	HET-1A; 人食管上皮细胞
生长特性	贴壁
培养条件	BEGM Bullet Kit
培养环境	37°C 5% CO <sub>2</sub> , 95% AIR
传代比例	1:2 传代, 2~3 天换液
冻存条件	90%FBS+10%DMSO
QC 检测	支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性

**注意：此细胞培养瓶或皿需要包被胶原蛋白。**

### 1、细胞传代：

- 1) 细胞生长至覆盖培养瓶的 80%面积时，弃 25cm<sup>2</sup> 培养瓶中的培养液，用 PBS 清洗细胞一次；
- 2) 添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 1ml 至培养瓶中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后加入 5ml 含血清的完全培养液终止消化，再轻轻吹打细胞使之脱落，然后将悬液转移至 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；
- 3) 弃上清，沉淀细胞用 1-2ml 完全培养基重悬，然后按 1:2 比例进行分瓶传代，最后放入 37°C，5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养；

### 2、细胞冻存：

- 1) 细胞生长至覆盖培养瓶的 80%面积时，弃 25cm<sup>2</sup> 培养瓶中的培养液，用 PBS 清洗细胞一次；
- 2) 添加 0.25%胰蛋白酶消化液约 1ml 至培养瓶中，倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后加入完全培养液终止消化，轻轻吹打细胞使之脱落，然后将悬液转移至 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；
- 3) 用适量的冻存液（FBS：DMSO=9：1）重悬细胞，并放置于冻存管中；
- 4) 先将细胞冻存管放置于-20°C 1.5h，然后将其移入-80°C 过夜，24h 后转入液氮中进行长期保存。使用程序降温盒可直接放入-80°C。

### 3、细胞复苏：

- 1) 从液氮中取出细胞冻存管（注意：佩戴防爆管面具），快速将其置入 37°C 水浴中解冻，直至冻存管中无结晶，然后用 75%的酒精擦拭冻存管外壁；
- 2) 将冻存管中的细胞移至含 6ml 完全培养基的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；
- 3) 弃上清，沉淀用 6ml 完全培养基重悬，接种 25cm<sup>2</sup> 培养瓶，于 37°C，5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。