

细胞名称	BNL CL. 2 小鼠胚胎肝细胞	英文名称	BNL CL. 2
形态特性	上皮样	生长特性	贴壁生长
种属	小鼠		
组织	胚胎		
培养体系	DMEM+10% FBS 气相：空气，95%；CO ₂ ，5%。 温度：37℃		
背景	该细胞是在用鸟氨酸和苯丙氨酸代替精氨酸和酪氨酸的平板上选择建立的细胞株；检测表明，BNL CL. 2细胞肢骨发育畸形病毒(鼠痘)阴性		
传代方法	建议第一次1:2传代 换液频率2~3次/周		
冻存条件	90FBS+10%DMSO, 推荐无血清冻存液		
保藏机构	ATCC		
备注	收到后需及时更换新的培养基		

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。

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，培养箱静置2-4小时。镜下观察：未超过80%汇合度时，可将瓶装的完全培养液收集至离心管中，加入6ml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。（**注意发货的是密封培养瓶的话，处理完后放入培养箱培养记得培养瓶子拧松**）

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4-6ml完全培养基后吹匀。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），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。

对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

1. 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的PBS润洗细胞1-2次。
2. 加1-2ml消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于37℃培养箱中消化1-2min，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5ml以上含10%血清的完全培养基终止消化。
3. 轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出，在1000RPM条件下离心5分钟，弃去上清液，补加1-2ml培养液后吹匀。
4. 按5-6ml/瓶补加培养液，将细胞悬液按1:2到1:5的比例分到新的含5-6 ml培养液的新皿中或者瓶中。