

## CephodexD 处理与细胞接种注意事项

称量：依用量和培养体积称量，切勿裸手接触载体。载体用量 5g/L

溶胀：超纯水，按 1g 载体加 100mL 水加量，8-12h 换水一次，每次尽量抽干，全程 48h。

平衡：PBS，按 1g 载体加 50mL PBS 加量，常温搅匀 5-10 min，沉降并抽干，共 2 次。全程 48h。

灭菌：115 或 121℃，1g 载体加 100mL 新配 PBS，混悬。灭菌完成后温度降至 80℃每隔 5min 混悬载体一次，共 3 次。至室温，**无菌 PBS 平衡 3 次**，方法同上。

菌检与培养基适应：按 1g 载体加 100mL PBS+10mL 生长液，37℃ 孵育

最低转速确定：将转速从小到大调节，直至载体刚好完全悬浮起来，此为最低转速。

细胞接种：去除载体孵育检验液，尽量抽干。按 1/3-1/2 培养体积加入细胞生长液，再按  $3 \times 10^5$  cells/mL 注入种子细胞（**应将细胞尽量消化分散为单个细胞**），边注入边搅拌混匀。

间歇搅拌：搅拌混匀后静置 30min，搅拌 1-2min，3 次，混匀载体细胞即停止搅拌；静置 60min，搅拌 1-2min，5 次，载体悬浮混匀即停。全程 8h。静置时尽量使载体铺满瓶底。

连续搅拌：以**最低转速**开启连续搅拌，正常培养。24h 后如果成团，可适当提高转速。