

### 细胞介绍

该细胞系来自 35岁女性的肝癌旁组织。

### 细胞特性

- 1) **来源**：肝脏
- 2) **形态**：上皮细胞样
- 3) **含量**： $>1 \times 10^6$  个/mL
- 4) **污染**：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) **规格**：T25瓶或者 1mL 冻存管包装

**运输和保存**：可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式：(1)干冰运输，收到后 立即转入液氮冻存或直接复苏；(2)存活细胞，收到后应继续生长，传代达到细胞生长状态良好时，再进行冻存。具体操作见细胞培养步骤。

**细胞用途**：仅供科研使用。

### 细胞培养步骤

#### 1) 培养基及培养冻存条件准备：

1. 准备 RPIVM-1640 培养基(RPMI-1640:GIBCO,货号 21875-091), 90%;北美胎牛血清(United States, GIBCO, 货号 16000-044), 10%。
2. 培养条件：气相：空气，95%;二氧化碳，5%。温度：37摄氏度，培养箱湿度为70%-80%。
3. 冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配。液氮储存。

#### 2) 细胞处理：

复苏细胞：将含有 1mL 细胞悬液的冻存管迅速放入 37°C 水浴中（水面要低于冻存管盖部）摇晃解冻，移入事先准备好的含有 4mL 培养基的 15ml 离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，加入 1mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液移入含有 5ml 培养基的培养瓶中培养过夜。第二天换液并检查细胞密度。

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：

弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2次。

力口 2m l 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mMEDTA)于培养瓶中，置于 37°C 培养箱中消化 1-2分钟，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入 3ml 此细胞的培养基终止消化。

轻轻吹打后吸出，移入 15ml 离心管中，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，加入 1ml 培养液后吹匀。

移入到事先准备好的含有 5ml 培养基的 T-25 培养瓶中或含有 14ml 培养基的 T-75 培养瓶中培养。

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，先要消化处理并进行细胞计数。消化方法按照细胞传代方法的 1-3 步骤进行，最后的重悬液使用血清。加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀，按每 1ml 的数量分配到冻存管中。本公司按每个冻存管细胞数目大于  $1 \times 10^6$  个细胞冻存。

注意事项：

收到细胞后，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。

所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。