

细胞特性

- 1) **来源**：肝癌
- 2) **形态**：上皮细胞样
- 3) **含量**：>1x10⁶ 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：使用含有优质胎牛血清的 2ml冻存管发送存活细胞。收到细胞后，可在 1000RPM，常温条件下，离心 5min后，于洁净操作台弃去上清，加入推荐使用的培养基后转移至 10cm 培养皿或者 T75培养瓶中培养，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 (RPIVM-1640:GIBCO, 货号 31800022, 添加 NaHCO₃1.5g八, D-葡萄糖 2.5g八, 丙酮酸钠 0.11g八), 90%;优质胎牛血清, 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%完全培养基, 10%DMSO, 现用现配。液氮储存。

2) 细胞处理：

复苏细胞：将含有 1mL细胞悬液的冻存管在 37° C水浴中迅速摇晃解冻，加入 4mL培养基混合均匀。在 1000RPM条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL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 10cm 皿中，加入约 8ml培养基，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 2ml 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少量培养基终止消化。

按 6-8ml/瓶补加培养基，轻轻打匀后吸出，在 1000RPM条件下离心 4 分钟，弃去上清液，补加 1-2mL培养液后吹匀。

将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8ml培养基的新皿中或者

瓶中。

3) 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，弃去培养基后加入少量胰酶，细胞变圆脱落后，加入约 1ml 含血清的培养基后加入冻存管中，再添加 10%DMSO 后进行冻存。

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。