

细胞系使用说明书

细胞名称	RBE 人肝胆管癌细胞
货号	H033
种属	人
细胞来源	从 ATCC/中科院/协和医院等地引进
生长特性	贴壁 上皮样
培养条件	培养基：90%DMEM+10%FBS 温度：37℃ 气相：95%空气，5%二氧化碳
传代	1.用 75%酒精喷洒整个培养瓶消毒，将其平躺置于培养箱中进行 1-3 小时的缓冲，然后置于无菌操作台，打开瓶口，将其中的培养液去掉，再往其中加入 5-6mL 新鲜培养基(以 T25 培养瓶为例)并置于细胞培养箱中培养，根据细胞生长状况及培养基颜色变化对其进行换液以及传代，一般 2 到 3 天换一次液； 2.待细胞长满瓶底面积 80%-90%，需要对其进行传代，传代比例为 1:3 到 1:6； 3 传代步骤：将 0.25%胰酶-0.53 mM EDTA 消化液置于 37°预热，倒掉培养瓶中的培养基，往培养瓶中加入 3-5 ml PBS，轻晃洗涤后弃去。往瓶中加入 1-2 ml 预热好的胰酶，置于 37°孵育消化（第一次消化需时常取出置于显微镜下观察，以显微镜下细胞触角回收变圆、轻拍瓶壁见细胞脱落为最佳消化时间，记录最佳消化时间，以便于下次消化），消化好后加入 3ml 完全培养基终止消化。用移液枪轻轻吹打瓶壁上的细胞，使之完全脱落，然后收集细胞悬液，1200rpm 离心 3min，弃上清，加入完全培养基重悬细胞，进行传代。
保存	冻存条件：80%完全培养基+10%FBS+10%DMSO (备注：建议使用本公司的冷冻液（H-W-100），用 4 度保存的冷冻液直接重悬细胞，不能预热后使用。) 保存条件：液氮存储
供应限制	经供研究之用
常见问题及解决方案	1.培养瓶有破裂，培养液有漏液：细胞极大可能会污染，所以我们会及时安排帮老师解决。 2.收到细胞后尽快更换为含 10%血清的新鲜培养基，如因特殊情况需要继续使用原瓶培养基，请在原瓶培养基中额外添加 10%的血清（原瓶培养基的继续使用时间最长不宜超过 72 小时） 3.细胞漂浮：培养瓶不开封，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度 80%，进行消化传代；如细胞还是不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，中间注意观察，我们的技术人员会一直跟踪指导，直到问题解决。

