

细胞系使用说明书

细胞名称	人肝细胞(已被hela污染)
货号	H066
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(L)+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。

