

小鼠肝癌细胞 HEP-53.4

产品基本信息

细胞名称: HEP-53.4, 小鼠肝癌细胞

种属来源: 鼠

组织来源: 肝

细胞形态: 上皮细胞样

生长特性: 贴壁生长

培养基: DMEM (含 NaHCO_3 1.5g/L) +10%FBS+PS

生长条件: 气相: 95%空气+5%二氧化碳; 温度: 37℃

传代方法: 1:2 至 1:3, 每周 2-3 次

冻存条件: 无血清冻存液, 液氮储存

支原体检测: 无

注意: 该细胞在 DMEM (含 1.5g/L NaHCO_3) 培养基中生长良好, 大部分品牌的 DMEM 含有较高浓度的 NaHCO_3 (3.7g/L), 若使用 DMEM (3.7g/L NaHCO_3) 培养基培养细胞时需要提高 CO_2 浓度 (7%-10%)。

该细胞贴壁不牢, 运输会导致细胞成团飘起, 可按以下方法处理:

1. 常规消化收集细胞离心
2. 离心后去掉离心管内上清, 加入 3ml 左右 PBS 重悬, 离心去掉上清后加入 1ml 左右胰酶重悬细胞混匀, 建议轻轻晃动或者轻轻吹打细胞, 放入培养箱消化细胞, 再消化 1min 左右。
3. 消化好后, 用移液枪轻轻吹打细胞悬液, 使细胞团分散, 迅速加入 3-5ml 含血清的培养基混匀以终止消化, 离心去除胰酶
4. 加入 5ml 左右的细胞相应的完全培养基混匀, 按比例接入培养瓶/皿中
5. 显微镜下观察看细胞是否成均匀分散的单细胞, 若有少量成团的小细胞团可不用重新消化, 使之贴壁后待细胞生长稳定后再消散细胞。

细胞培养操作

1) 复苏细胞: 将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻, 加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min, 弃去上清液, 加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜 (或将细胞悬液加入 6 cm 皿中, 加入约 4 mL 完全培养基, 培养过夜)。第三天换液并检查细胞密度。

2) 细胞传代: 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

a、弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

b、加入 0.25% Trypsin-0.02% EDTA 消化液于培养瓶中 (T25 瓶 1-2ml, T75 瓶 2-3ml), 使消化液浸润所有细胞, 将培养瓶置于 37℃ 培养箱中消化 1-3min (难消化的细胞可以适当延长消化时间), 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 3-4ml 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中, 1000 rpm 离心 5 min, 弃去上清液, 补加 1-2 mL 培养液后吹匀。

c、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 6-8 mL 培养基的新皿中或者瓶中，置于培养箱中培养。

3) 细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例；

a、收集细胞及细胞培养液，装入无菌离心管中，1000 rpm 条件下离心 4 min，弃去上清液，用 PBS 清洗一遍，弃尽 PBS，进行细胞计数。

b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7/\text{mL}$ ，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。

c、将冻存管放入 -80℃ 冰箱，24 h 后转入液氮罐储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

培养注意事项

1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，干冰运输的细胞检查干冰是否完全挥发，细胞是否解冻，若有上述现象发生请及时和我们联系。

2. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致，若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。

3. 用 75% 酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态。因运输问题，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。**观察好细胞状态后，75% 酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置 2-4h。**

4. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养。

5. 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和我司技术部沟通交流。由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。

6. 该细胞仅供科研使用。

7. 说备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 1: 2 传代。

8. 注意：1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿。