

HELf 人胚肺成纤维细胞
Human Embryonic Lung Fibroblast Cells ,HELf

细胞特性

- 1) 来源: 肺
- 2) 形态: 成纤维细胞, 贴壁生长
- 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

细胞接受后的处理:

- 1) 收到细胞后, 请检查是否漏液, 如果漏液, 请拍照片发给我们。
- 2) 请先在显微镜下确认细胞生长状态, 去掉封口膜并将 T25 瓶置于 37℃ 培养约 2-3h。
- 3) 弃去 T25 瓶中的培养基, 添加 6ml 本公司附带的完全培养基。
- 4) 如果细胞长满 (90%以上) 请及时进行细胞传代, 传代培养用 6ml 本公司附带的完全培养基。
- 5) 接到细胞次日, 请检查细胞是否污染, 若发现污染或疑似污染, 请及时与我们取得联系。

一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 准备 RPMI-1640 培养基 (RPMI-1640:GIBCO, 添加 NaHCO_3 1.5g/L, D-葡萄糖 2.5g/L, 丙酮酸钠 0.11g/L), 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℃, 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。

二. 细胞处理:

1) 复苏细胞: 将含有 1mL 细胞悬液的冻存管迅速放入 37℃ 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。

2) 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:

1. 弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
2. 加 2mL 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mM EDTA) 于培养瓶中, 置于 37℃ 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。
3. 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。
4. 移到事先准备好的含有 5mL 培养基的 T-25 培养瓶或含有 14mL 培养基的 T-75 培养瓶中培养。

3) 细胞冻存: 待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。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。悬浮细胞直接计数后离心, 用血清重悬浮, 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 1×10^6 个细胞冻存。

注意事项:

1. 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。
2. 建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。

使用范围

本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

