

## C3A 人永生化肝细胞

Human Immortalized Hepatocytes ,C3A

## 细胞特性

- 1) 来源: 肝
- 2) 形态: 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

## 运输和保存: 可选择干冰运输及发送复苏存活细胞方式:

- (1) 干冰运输, 收到后立即转入液氮或者-80 度冰箱冻存或直接复苏;
- (2) 存活细胞, 收到后应继续生长, 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。
- (3) 收到细胞后请拍照, 3 天内如果发现污染, 请及时拍照与我们联系。

## 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 新的完全培养基。
- 4) 如果细胞长满 (90% 以上) 请及时进行细胞传代。
- 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。

## 细胞培养步骤

## 一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 准备 MEM 培养基; 北美胎牛血清+10%; 双抗+1%。
- 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%血清, 10%DMSO, 现用现配。

## 二. 细胞处理:

- 1) 复苏细胞: 将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 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 250px 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。
- 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少量培养基终止消化。
  - 3、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。
  - 4、收到细胞后首次传代推荐将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新的含 6mL 培养基的新皿中或者瓶中, 建议冻存一支备用, 后续传代根据实际情况按 1:2 到 1:5 的比例进行。

网址: [www.hfwanwu.com](http://www.hfwanwu.com)

电话: 400-1016-218

地址: 合肥市蜀山区长江西路 248 号 11 层



**2) 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：

- 1、细胞冻存时，弃去培养基后，PBS 清洗瓶底 1-2 次后加入 1ml 胰酶，细胞变圆脱落后，加入 2ml 完全培养基终止消化，可使用血球计数板计数。
- 2、1000RPM 离心 5 分钟去掉上清。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，注意冻存管做好标识。本公司按每个冻存管细胞数目大于  $1 \times 10^6$  个细胞冻存。
- 3、将冻存管置于程序降温盒中，放入 -80 度冰箱，至少 2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。

**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。

