

## THLE-2 人正常肝细胞

### 一、细胞简介

细胞简介	<p>THLE-2 是从供体左叶分离的上皮细胞, TTHLE-2 ( ATCC CRL-2706 和 THLE-3 ( ATCC CRL-11233 ) 细胞系是通过感染 SV40 大 T 抗原从原代正常肝细胞中获得的。</p> <p>[RF84749] 该病毒是通过引入含有将 SV40 T 抗原的 Bg1 I-Hpa I 片段导入两性包装细胞系 PA317。[RF84750] THLE-2 和 THLE-3 细胞表达正常成人肝上皮细胞的表型特征。当注射到无胸腺裸鼠体内时, 它们不会产生肿瘤, 具有接近二倍体的核型, 并且不表达甲胎蛋白。[RF84750] THLE-2 和 THLE-3 细胞将苯并[a]芘、N-亚硝基二甲胺和黄曲霉毒素 B1 代谢为其最终致癌代谢物, 这些代谢物会加合 DNA, 这表明功能性细胞色素 P450 途径。[RF84750] 其他参与化学致癌物代谢的酶, 例如环氧化物水解酶、NADPH 细胞色素 P450 还原酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽 S-转移酶和谷胱甘肽过氧化物酶也被 THLE 细胞保留。</p>
细胞名称	THLE-2 人正常肝细胞
细胞别称	THLE-2; THLE2; Transformed Human Liver Epithelial-2
细胞货号	Delf-16595
来源	肝; 左叶
细胞形态	上皮细胞样
生长特性	贴壁生长
培养条件	<p>准备 BEGM kit 培养基 (Lonza/Clonetics) 备注: 培养基包含 (A+B), ATCC 不使用 BEGM 试剂盒提供的 GA (庆大霉素-两性霉素 B 混合物) 和肾上腺素 (Epinephrine), 另向其中添加额外的 5 ng/mL EGF、70 ng/mL 磷酸乙醇胺和 10% FBS。可根据实验要求添加 P/S 双抗, 1%。</p> <p>A: BEBM 基础培养基 500ML      B: 细胞生长添加剂 一套 (包含下列试剂)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● BPE, 2.0 ml    ● Hydrocortisone, 0.5 ml    ● hEGF, 0.5 ml</li> <li>● Epinephrine, 0.5ml    ● Insulin, 0.5 ml    ● Transferrin, 0.5 ml</li> <li>● Triiodothyronine, 0.5 ml    ● Retinoic Acid, 0.5 ml    ● GA, 0.5ml</li> </ul> <p><b>注意: The flasks used should be precoated with a mixture of 0.01 mg/mL fibronectin, 0.03 mg/mL bovine collagen type I and 0.01 mg/mL bovine serum albumin dissolved in BEBM medium.</b></p> <p>该细胞生长缓慢, 培养周期 2-3 周左右。</p> <p><b>ATCC 上 THLE-2 细胞推荐上面的培养条件和试剂来培养该细胞, 因市场长期断货, 本公司用其它培养体系进行培养传代验证后已经稳定下来配方, 采用的是跟 ATCC 上类似的无血清培养基来进行替代培养。</b></p>
培养环境	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。 温度: 37°C, 培养箱湿度为 70%-80%。
二、细胞复苏方法	



复苏步骤	<ol style="list-style-type: none"> <li>1、将冻存管在 37℃水浴中迅速摇晃解冻；</li> <li>2、加入到含 4-6mL 基础培养基（含 10%FBS）的离心管中混合均匀；</li> <li>3、在 1000RPM 条件下离心 5min，弃去上清液，完全培养基重悬细胞；</li> <li>4、将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶（或皿）中 37℃培养；</li> </ol>
<b>三、细胞传代方法</b>	
传代比例	1:2（具体情况视细胞生长速度及密度决定）
传代方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1、尽量吸干净 T25 瓶原培养基；</li> <li>2、用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次，吸走润洗的 PBS；</li> <li>3、加入 0.25% (w / v) 胰蛋白酶-0.53 mM EDTA 于培养瓶中 (T25 瓶 1-2mL, T75 瓶 2-3mL)；</li> <li>4、将培养瓶放入 37 度培养箱消化（1 到 2 分钟，难消化的细胞适当增加时间）；</li> <li>5、消化到细胞大部分变圆并脱落，轻敲培养瓶后加入 3-4ml 含 10%FBS 的基础培养基终止消化；</li> <li>6、混匀细胞吸出，1000rpm 离心 5min，弃上清；补加 1-2ml 完培吹匀；</li> <li>7、按 1:2 分配到新的培养瓶中，添加 6-8ml 完培保持细胞生长；</li> </ol>
注意事项	不同品牌胰酶消化时间差别较大，可根据细胞形态判断消化进程
<b>四、细胞冻存方法</b>	
冻存液配方	冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配（推荐使用 <b>DELF 无血清非程序细胞冻存液 Delf-16090</b> 进行冻存细胞，快速，便捷）。
冻存规格	按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。
冻存方法	<ol style="list-style-type: none"> <li>1、消化并离心收集细胞，计数，推荐冻存密度为 <math>1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7</math> 个活细胞/ml；</li> <li>2、将细胞悬液尽快移入已经做好标记的冻存管；</li> <li>3、将冻存管转入程序冻存盒，放入-80 度冰箱过夜，第二天转入液氮保存；没有程序冻存盒的实验室，加入细胞后可以将冻存管放在泡沫盒中 4 度静置 5-10min，再-20 度静置 2h 后转入-80 度过夜，第二天转入液氮保存；</li> </ol>
<b>五、注意事项</b>	
注意事项	<ol style="list-style-type: none"> <li>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，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。</li> <li>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。</li> <li>3、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。</li> </ol>

