



## HuH-7 人肝癌细胞 使用说明书

产品编号	PE101007
细胞名称	HuH-7 人肝癌细胞
描述	据说产甲胎蛋白, 胰酶 $\alpha$ 抗体, 血浆铜蓝蛋白, 纤维蛋白原, 纤维粘连蛋白等。
种属	人
组织来源	肝
形态	上皮细胞样
培养特性	贴壁
安全性	<b>所有肿瘤和病毒转染的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</b>
培养基	配培养基: DMEM 高糖+ 10%胎牛血清+1%双抗+1%L-alanyl-L-glutamine+1% Sodium Pyruvate 温度: 37 C 气相: 95%空气, 5%二氧化碳
细胞复苏	注意:1.低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37 C 的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。 2.提前室温预热培养基。 1.在无菌区准备好15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入5ml 完全培养基; 2.将冻存管放入 37 C 水浴锅中, 握住冻存管不停晃动, 直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出, 擦干并喷洒 75%乙醇, 移至无菌区; 3.小心地拆卸盖子, 不要碰到里面的螺纹, 用移液枪轻轻吸出细胞悬液, 加入到准备好的 15ml 离心管中, <b>1000rpm 离心5min</b> ; 4.弃上清后, 轻弹离心管底部分散细胞沉淀, 加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的 T25 培养瓶 (建议加液量: 5~7ml) ; 5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布, 如有必要 (如使用不透气瓶), 松开阀盖, 以便气体交换。 6.将培养瓶放入CO <sub>2</sub> 培养箱中培养。
传代	收到细胞后, 请对细胞培养瓶外表进行消毒, 将细胞置于培养箱中进行1-2 小时的缓冲, 待细胞恢复基本生长状态后, 进行后续细胞实验。 在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况: (一) 细胞未长至 85%时, 用 75%酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内, 严格无菌操作, 打开细胞培养瓶, <b>若培养瓶上无特殊标注</b> , 吸去剩余培养液, 只留 6-8ml 培养液继续培养。



(二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代, 具体步骤如下:

1. 弃去培养液, 用PBS 洗涤1-2 次;
2. 加入 1.0ml 胰酶消化液, 37°C 消化约 3min, 显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落, 则迅速拿回操作台, 加入至少双倍完全培养液, 终止消化并轻轻吹打细胞 1-2 次, 使其变成单细胞悬液;
3. 将细胞收集于离心管中离心1000rpm/5min, 弃上清, 轻弹管底, 将细胞弹散;
4. 加入新鲜培养基重悬细胞, 进行传代;
5. 如果没有特别说明, 建议收到细胞后的第一次传代比例为1:2。

注: 1. 观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察, 以便正确的判断细胞密度; 观察细胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察;

2. 推荐使用 0.25%胰酶/EDTA 消化液;
3. 瓶中运输的培养液不能重复使用, 请换新鲜培养液培养;
4. 有些细胞贴壁不牢, 如发现贴壁细胞有脱落, 可离心重悬后接种到新瓶内。

保存	冻存条件: 无血清细胞冻存液 保存条件: 液氮存储
供应限制	仅供研究之用
常见问题及解决方案	<p>1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂, 漏液等, 如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</p> <p>2. 贴壁细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 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, 剩余少量漂浮的细胞可以去掉, 留8-10ml 培养液培养观察, 细胞生长至汇合度到达85%左右, 进行消化传代; 如细胞仍不贴壁, 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, 注意观察。如细胞仍不能贴壁, 请用台盼蓝染色鉴定细胞活力, 并请及时拍照 (多倍数多视野), 包括染色照片, 并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法)</p> <p>3. 悬浮细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rpm, 5min), 加入适量培养基, 根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法)</p> <p>4. 半悬细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rpm, 5min), 重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大, 可将贴壁细胞消化下来, 与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件, 防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法)</p> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系, 我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>
细胞株培养扩增技术服务申明	本公司受贵单位委托, 进行细胞株的技术服务工作, 并收取相应细胞株技术服务费用, 细胞株技术服务具体项目清单见订购合同。本公司提供完善的技术支持及售后服务, 收到产品后处理方式及相应售后条款参见《细胞售后条例》。