



## HK-2 人肾皮质近曲小管上皮细胞使用说明书

货号	PE101014
细胞名称	HK-2 人肾皮质近曲小管上皮细胞
描述	人肾上皮细胞
种属	人
组织来源	肾, 皮质/近曲小管
形态	上皮细胞
培养特性	贴壁
安全性	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
培养基	<p><b>推荐培养基套装:</b></p> <p><b>500ml 基础培养基; 5 ml 胎牛血清;</b></p> <p><b>5ml 细胞生长因子; 5ml 青霉素/链霉素溶液</b></p> <p><b>温度: 37℃</b></p> <p><b>气相: 95%空气, 5%二氧化碳</b></p>
细胞复苏	<p><b>注意:</b></p> <p><b>1.低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37℃的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。</b></p> <p><b>2.提前室温预热培养基。</b></p> <p><b>3.该细胞贴壁较慢, 为使细胞贴壁更容易, 可提前在培养皿/培养瓶中铺 0.2%或 0.25% 的明胶溶液, 并于贴壁 24-48 小时后再进行后续操作。</b></p> <p>1.在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶分别加入约 3ml 和 7ml 培养基。</p> <p>2.将冻存管放入 37℃水浴中, 握住冻存管晃动, 直到内容物完全融化。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。</p> <p>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, 加入到准备好的 15ml离心管中 1000rpm, 5min 离心。</p> <p>4.弃上清, 轻弹管底将细胞弹散, 加入约 1ml 培养基重悬细胞并转入 T-25 培养瓶中, 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要, 松开阀盖, 以便气体交换。</p> <p>5.将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</p> <p>6.24-48h 后观察细胞形态和数量, 更换培养基, 注意轻拿轻放。</p>
传代	<p>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。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况:</p> <p>(一) 细胞未长至 80%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, 若培养瓶上无特殊标注, 吸去剩余培养液, 只留 6-8ml 培养液继续培养。</p> <p>(二) 细胞已长满 (达 80%左右), 即可进行传代, 具体步骤如下:</p>



- 1.弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；
- 2.加入 1.0ml 0.05%胰酶消化液，37℃消化约 2min，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，加入中和液并轻轻吹打细胞 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 0.05%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。

备注	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 该细胞贴壁较慢，为使细胞贴壁更容易，可提前在培养瓶或培养皿中铺0.2%或0.25%的明胶溶液，并于贴壁24-48h 后再进行操作。</li> <li>2. 该细胞生长不能过密，请在生长密度80%左右进行传代或冻存，此细胞增殖速度较慢，建议2-3 天更换培养基，之后传代比例为1:2-1:3。</li> <li>3. 消化时请将0.25%胰酶进行稀释后消化或直接使用0.05%胰酶进行消化。同时由于该细胞培养液无法终止胰酶消化，建议使用sciencell 的胰酶中和液(货号：0113)将其终止消化，之后必须通过离心去除胰酶，再进行后续操作。</li> <li>4. 在培养基中看到许多圆形，漂浮和折射细胞是正常情况，不应丢弃松散附着和圆形的漂浮细胞，收集离心后可以重新加入到培养瓶中。</li> </ol>
----	---

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	<ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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）</li> <li>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）</li> <li>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）</li> </ol> <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>
-----------	--