

# HeLa 人宫颈癌细胞使用说明书

|      |   |
|------|---|
| 货号   | PE101036  |
| 细胞名称 | HeLa 人宫颈癌细胞   |
| 描述   | 角蛋白免疫过氧化物酶染色阳性。有报告称 MS751 细胞含有人乳头状瘤病毒 18 (HPV-18)序列。据报道, p53 表达水平低, pRB(成视网膜细胞瘤抑制因子)表达水平正常。   |
| 种属   | 人   |
| 组织来源 | 宫颈腺癌  |
| 形态   | 上皮细胞样   |
| 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  | <b>推荐自配培养基: EMEM (含 NEAA) +10%FBS +1%P/S</b><br><b>温度: 37°C</b><br><b>气相: 95%空气, 5%二氧化碳</b>   |
| 细胞复苏 | <b>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。</b><br><b>2.提前室温预热培养基。</b><br>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;<br>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;<br>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><br>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) ;<br>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。<br>6.将培养瓶放入 CO2 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。<br>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况:<br>(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℃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, 加入至少双倍的完全培养液, 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

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。
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)
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)
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)

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。

---