

## 人正常肝细胞(L-02)

### 细胞介绍

L-02 细胞建系鉴定于 1980 年。该细胞是一株正常肝细胞系，具有典型的肝细胞形态学特征，可用于多种实验研究。

### 细胞特性

- 1) **来源:** 肝脏
- 2) **形态:** 上皮细胞样，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:** 使用含有优质胎牛血清的 2ml 冻存管发送存活细胞。收到细胞后，可在 1000RPM，常温条件下，离心 5min 后，于洁净操作台弃去上清，加入推荐使用的培养基后转移至 10cm 培养皿或者 T25 培养瓶中培养，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。

**细胞用途:** 仅供科研使用。

### 细胞培养步骤

#### 1) 培养基及培养冻存条件准备:

1. 准备 RPIVM-1640 培养基(RPMI-1640:GIBCO,货号 21875-091)，80%;北美胎牛血清，20%。
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。液氮储存。

#### 2) 细胞处理:

**复苏细胞:** 将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37° C 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 10cm 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。

**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：弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。力口 2m | 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mMEDTA)于培养瓶中，置于 37° C 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。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。将细胞悬液按 1:2 到 1:5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。



**细胞冻存：**待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，先 要消化处理并进行细胞计数。消化方法按照细胞传代方法的 1-3 步骤进行， 最后的重悬液使用血清。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。本公司按每个冻存管细胞数目大于  $1 \times 10^6$  个细胞冻存。

**注意事项：**

收到细胞后，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。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。