

人肝母细胞瘤细胞稳定表达荧光素酶Hep G2/2.15+LUC-Puro

Cat No.:JY-T172



Description

种属	人
别称	Hep G2/2.15+LUC-Puro
组织来源	肝
疾病	肝癌
传代比例/细胞消化	1:2传代, 消化2-3分钟。
完全培养基配置	MEM培养基; 10%胎牛血清; 0.38mg/ml G418; 1%双抗
简介	肝细胞癌的病因与乙型肝炎病毒 (HBV) 感染密切相关。由于HBV在肝癌发生中的致病作用, 研究人员建立了HBV感染的肝细胞癌细胞模型, 以阐明肝癌的进展机制和基础生物学特性。Hep-G2/2.2.15人肝母细胞瘤细胞系是HepG2人肝母细胞瘤细胞的一个亚克隆, 可稳定表达乙型肝炎病毒, 是目前最广泛用于研究HBV相关肝病的模型之一。与亲代HepG2细胞相比, Hep-G2/2.2.15细胞增殖和侵袭活性较低, 在裸鼠体内成瘤性也较低。与亲代HepG2细胞类似, Hep-G2/2.2.15细胞也表达微管相关标志物双皮质素 (DCX)。Hep-G2/2.2.15细胞由稳定转染乙型肝炎病毒 (HBV) 基因组的Hep-G2细胞产生, 对G418具有抗性, 且含有两个头对头连接的HBV D型基因组二聚体。亲代HepG2细胞系是从一名15岁男性肝母细胞瘤患者的组织中分离获得的, 该细胞通过慢病毒转染的方式携带Luc基因和嘌呤霉素抗性。Hep G2/2.15+LUC细胞puro药筛浓度为2.0ug/ml, 培养过程中建议使用1.0ug/ml浓度puro维持。
形态	上皮细胞样
生长特征	贴壁生长
STR	Amelogenin X,Y CSF1PO 10,11 D3S1358 15,16 D5S818 11,12 D7S820 10 D8S1179 15,16 D13S317 9,13 D16S539 12,13 D18S51 13,14 D21S11 29,31 FGA 22,25 Penta D 9,13 Penta E 15,20 TH01 9 TPOX 8,9 vWA 17
倍增时间	每周 2-3次
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%。
冻存条件	冻存液: 90%FBS, DMSO 10%, 或使用非程序冻存液: 官网货号JY-H040
产品使用	仅限于科学研究, 不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

细胞接收处理流程:

- 1: 观察有无破损漏液情况, 如有请拍照及时联系客服。
- 2: 酒精消毒培养瓶表面后显微镜下观察细胞状态, 观察拍照后不用打开培养瓶盖 放入培养箱静止 2-3小时稳定 细胞状态。
- 3: 请按照细胞操作指南进行第一次传代冻存处理。
- 4: 产品随货会附带细胞说明书、细胞培养操作指南、细胞鉴定、支原体检测报告。
- 5: 若产品有异常或其他疑问, 可随时联系客服; 转至技术支持。

贴壁细胞

贴壁细胞接收后的处理

- 1) 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于37°C培养箱放置约2-4h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们
- 2) 静置完成后，请在显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

贴壁细胞：细胞在37°C培养箱中放置2-3h，显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况，有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在60%以下，可去除培养瓶中灌液培养基（若有未贴壁的细胞需要离心回收，重悬打入到原培养瓶中），加入新配制的完全培养基6-8mL，放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达70%-80%以上，可以对细胞进行传代处理。传代过程中，若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1：2传代。

<p>请扫描右侧二维码 观看操作视频</p> 	<div data-bbox="726 728 933 929"><p>贴壁细胞收货注意事项</p></div> <div data-bbox="662 952 1005 996"><p>贴壁细胞收货注意事项以及传代</p></div> <div data-bbox="1165 728 1372 929"><p>细胞复苏</p></div> <div data-bbox="1212 952 1340 996"><p>细胞复苏</p></div>
--	--

贴壁细胞的复苏、传代、冻存步骤

● 贴壁细胞复苏：从液氮灌中或-80°C冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37°C。

- 1) 将含有1mL细胞悬液的冻存管在37°C水浴中迅速摇晃解冻；
- 2) 加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀。
- 3) 弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8mL完全培养基接种于 T25 培养瓶中（或 6cm 皿中），培养过夜，第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

● 贴壁细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

- 1) 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次；
- 2) 加 1-2mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于 37°C培养箱中消化 2-3min，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 5ml 以上含 10%血清的完全培养基终止消化；
- 3) 轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出至离心管中，1000rpm离心3-5min，弃去上清液，补加1-2mL完全培养基后吹匀；
- 4) 按 5-6mL/瓶补加完全培养基，将细胞悬液按 1:2 到 1:3 的比例分到新的含 6-8mL完全培养基的培养皿中或者培养瓶中。
（首次传代两个T25或者两个6cm的皿）

● 贴壁细胞冻存：

- 1) 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml；
- 2) 1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，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；
- 3) 按冻存数量加入无血清冻存液后直接放-80°C冰箱过夜，后续可转入液氮罐中长期保存。

悬浮细胞

悬浮细胞接收后的处理

- 1) 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于37°C培养箱放置约2-4h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们
- 2) 静置完成后，请在显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

悬浮细胞：T25瓶置于37°C培养箱放置约2-3h，然后抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心5分钟，弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中。
(加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基)。

备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1：2传代。

<p>请扫描右侧二维码 观看操作视频</p> 	 <p>悬浮细胞收货注意事项以及传代</p>	 <p>细胞复苏</p>
--	---	---

悬浮细胞的复苏、传代、冻存步骤

● 悬浮细胞复苏：从液氮罐中或-80°C冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37°C。

1. 复苏细胞：从液氮罐中或-80°C冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37°C；

- 1) 将含有1mL细胞悬液的冻存管在37°C水浴中迅速摇晃解冻；
- 2) 加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀；
- 3) 弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8ml完全培养基接种于 T25 培养瓶中（或 6cm 皿中），培养过夜，第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

● 悬浮细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

方法一：将细胞悬液收集到离心管中1000rpm，离心5min，弃去上清，补加1-2mL培养液后重悬混匀后将细胞悬液按1：2的比例分到新T25瓶中，添加6-8ml按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力。

方法二：1) 半换液处理，竖着培养瓶在培养箱静置 10-20min 左右，肉眼可见大部分细胞沉在底部；

- 2) 轻轻吸掉 3ml 左右培养基，将剩余细胞悬起混匀；
- 3) 将细胞悬液按 1:2 到 1:3 的比例分到新的含 5-6 mL 完全培养基的培养皿中或者培养瓶中，一般这样传代 3 次左右可以离心传代一次

● 悬浮细胞冻存：

1) 收集瓶内所有细胞悬液吸至离心管，如悬浮细胞贴壁需要把贴壁的细胞吹下来一起收集离心，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml；

2) 1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，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；

3) 按冻存数量加入无血清冻存液后直接放-80°C冰箱过夜，后续可转入液氮罐中长期保存。

半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞

半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞接收后的处理

- 1) 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于37°C培养箱放置约2-4h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们
- 2) 静置完成后，请在显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞：T25瓶置于37°C培养箱中约2-3h，显微镜下观察细胞的情况，若细胞密度在60%以下，客户需收集T25瓶中的悬浮细胞离心后用完全培养基重悬后打回到原培养瓶中继续培养，若细胞生长70%-90%对细胞进行传代，传代时需要收集培养基中悬浮的细胞离心后回收。

备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1：2传代。

半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞的复苏、传代、冻存步骤

● 复苏细胞：从液氮罐中或-80°C冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37°C。

- 1) 将含有1mL细胞悬液的冻存管在37°C水浴中迅速摇晃解冻；
 - 2) 加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀；
 - 3) 弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8mL完全培养基接种于 T25 培养瓶中（或 6cm 皿中），培养过夜，第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度；
2. 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

请扫描右侧二维码观看操作视频



细胞复苏

细胞复苏

● 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

- 1) 将培养瓶中的悬浮的细胞收集到离心管中；
- 2) 贴壁细胞用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次，由于细胞贴壁不牢PBS润洗后细胞会脱落所以PBS也要回收离心管中；
- 3) 加 1-2mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于 37°C培养箱中消化 2-3min，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 5ml 以上含 10%血清的完全培养基终止消化；
- 3) 将收集到的悬浮细胞、pbs清洗液中的细胞和消化下来的贴壁细胞1000rpm离心5min，弃去上清，补加1-2mL培养液后重悬混匀后将细胞悬液按1：2的比例分到新T25瓶中，添加6-8ml按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力。（即 1 个 T25 传代接种至 2~3 个 T25 或者 2~3 个直径为6cm 的培养皿）。

● 细胞冻存：

- 1) 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml；
- 2) 1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，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；
- 3) 按冻存数量加入无血清冻存液后直接放-80°C冰箱过夜，后续可转入液氮罐中长期保存。

常温细胞收货当天处理方式

1. 收到常温细胞后，及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象。
2. 镜下观察有无微生物污染现象，拍照记录不同倍数镜下细胞状态和有无染菌现象，方便后续售后处理。
3. 消毒后，更换赠送的完全培养液放置培养箱静止2-3小时。如细胞有少数悬浮细胞需要离心收集重新接种至培养瓶。
4. 观察细胞密度若超过 80%则可正常传代处理(有的原代细胞不可传代，请根据实际情况决定)，首次传代推荐比例 1: 2 到 1: 3 (按实际收货细胞密度决定，若不确定可联系技术支持)；若细胞密度不到 80%则可继续培养，注意拧松瓶盖或更换透气瓶盖；悬浮细胞注意离心所有培养基以收集细胞。
5. 由于气温，运输等影响造成贴壁细胞漂浮的，请将细胞离心收集后在离心管中消化后进行传代 (参考附件)，或及时联系技术支持进行指导传代。

贴壁细胞传代：

1. 从培养容器中吸出用过的细胞培养基并丢弃；
2. 从与贴壁细胞层相对的容器一侧轻轻加入冲洗液以避免搅动细胞层，前后摇晃容器数次
3. 从培养容器中吸出冲洗液并丢弃，向培养瓶中加入预热的胰酶；胰酶量应足以覆盖细胞层 (T25为1ml)；
4. 将培养容器在室温下孵育约 2分钟 (请注意实际孵育时间根据所用细胞系不同而有所差异)；
5. 在显微镜下观察细胞解离情况；如果解离程度未达 90%，可将孵育时间延长几分钟，每 30 秒钟检查一次解离情况；
6. 细胞解离程度大于等于 90%时，倾斜培养容器，使细胞上液体尽快流尽；加入所用解离剂两倍体积的预热完全生长培养基；吹打细胞层表面数次，使培养基分散；
7. 将细胞转移到15mL 无菌离心管中，以 200×g 的离心力离心 3-5 分钟 (请注意离心速度和时间依细胞种类不同而有所差异)；
8. 用最少体积的预热完全生长培养基重新悬浮细胞沉淀，将细胞悬液按照推荐比例稀释，并将适量体积的细胞悬液转移到新的细胞培养容器中，把细胞放回培养箱 (注：如果使用培养瓶，将其放入培养箱前应将瓶盖旋松，以便进行充分的气体交换，除非您使用的是通气式培养瓶和透气性瓶盖)。

悬浮细胞传代：

1. 将 T25 培养瓶中的悬液收集至离心管中 1000rpm 离心 5min，收集上清，加 1- 2ml 完全培养基重悬，按 1:2 比例进行比例传代分到新T25瓶中，补充5-8ml/瓶新的完全培养基，最后放入细胞培养箱中培养