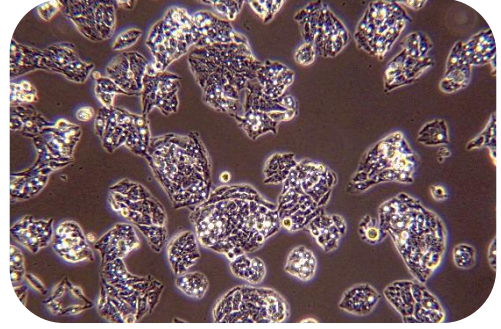


HepG2.2.15 肝癌细胞系

(可贴壁, Cat# LV- HepG15001)

(BSL-2, 仅用于科学研究)



为确保实验人员安全及生物安全, 请在接触本产品及其废弃物时佩戴防护口罩、乳胶手套以及防护眼罩(复苏时)等必要的防护用品, 严格按照本说明书操作, 实验结束后所产生的废弃物按照国家、省、市级相关法律法规, 进行无害化处理, 确保生物安全。

I 简介

HepG2.2.15 是将 HBV 复制基因组 (D 基因型) 稳定转入 HepG2 肝癌细胞系中, HBV 稳定复制, G418 筛选得到阳性细胞。该细胞系的乙肝病毒基因组为 2 倍基因组, 自身启动子控制 HBV 复制, 复制效率为一般, 主要用于乙肝病毒复制研究、抗病毒药物筛选以及作为乙肝病毒感染性病毒粒子的产毒细胞株。请在生物安全二级实验室 BSL-2 中进行相关实验, 做好个人防护。

II 试剂与材料

- HepG2.2.15 肝癌细胞系
- 常规培养基 (DMEM/F12+10%FBS+1%PS)
- 筛选培养基 (常规培养基+400 μ g/ml G418)
- PBS
- 0.5%胰酶
- 移液枪头与移液枪
- 胶原包被板培养基
- 恒温水浴锅 (37 $^{\circ}$ C预热)
- 生物安全柜
- 离心机
- 37 $^{\circ}$ C/5%CO₂ 培养箱
- 75%酒精

III 冻存细胞的复苏与铺板

1. 紫外消毒生物安全柜15min; 取10ml常规培养基于15ml离心管中, 放入37 $^{\circ}$ C恒温水浴锅中充分预热。
2. 将冻存的肝细胞从冷藏位置经液氮迅速转移至37 $^{\circ}$ C恒温水浴锅中, 将冻存管尽可能多的浸入37 $^{\circ}$ C水中, 顺时针水平摇动, 但必须确保冻存管管盖保持在水面以上。
3. 解冻冻存管约90-120s, 至冻存管中只有少量碎冰漂浮即可。
4. 用75%酒精消毒冻存管, 并将其转移到生物安全柜。
5. 300g, 4 $^{\circ}$ C离心5min, 去掉上清并用常规培养基重悬。
6. 沉淀的细胞用常规培养基重悬并定容至4ml, 用台盼蓝排除法测定细胞的活力和细胞总量。

7. 将细胞以 1.5×10^4 cells/cm²的密度接种至胶原培养培养瓶中, 摇匀, 在37 $^{\circ}$ C/5% CO₂培养箱中培养, 24h后换液, 之后隔天换液。

IV 新鲜细胞的处理、培养、冻存与筛选

1. 紫外消毒生物安全柜 15min; 并对培养瓶进行酒精消毒。
2. 用移液器去除培养基, 留 5ml 培养基, 多余培养基过滤待用 (后续操作, 用过滤后的培养基进行培养, 直至冻存一批后, 可逐渐更换成研究者自己的培养基, 以免发生培养基不适应)。
3. 培养 24-48 小时 (具体看细胞密度), 细胞已经长满 80% 融合度, 吸除旧培养液, 加少量 PBS 润洗细胞, 加入适量胰酶, 使胰酶的量能盖住细胞, 37 $^{\circ}$ C 孵育, 约 2~3min; 加入常规培养基终止消化。
4. 收集细胞悬液, 于 300g, 常温离心 5min, 去上清并用常规培养基重悬。
5. 按体积比 1: 3 或者 1: 4 传代, 将细胞悬液接种到新的胶原包被培养瓶内, 置 37 $^{\circ}$ C/5% CO₂ 培养箱培养, 隔天观察贴壁生长情况。
6. 冻存细胞, 利用常规冻存液: (10%DMSO+45%FBS+45%DMEM) 进行细胞冻存, 程序降温盒降温。
7. 为了达到更好的乙肝病毒复制/产毒效率, 需对细胞系进行筛选, 利用筛选培养基筛选 1-2 周, 可对筛选后的细胞进行保存, 用于后续试验。

V 关于售后

如您发现有产品任何质量问题, 请您收集原始数据, 请第一时间联系公司销售或者技术支持, 公司安排人员保证售后。每个实验室条件不同, 操作人员习惯不同, 熟练程度不一样, 实验失败存在客观因素。如未严格按照说明书操作、超过售后时限、无原始数据的, 公司不做售后, 请老师理解与支持。

售后有效期与提供的原始数据:

复苏问题: 立刻报告异常; 提供台盼蓝染色或者 AO/PI 染色。

污染问题: 复苏 72 小时以内; 提供相差显微镜照片。

纯度问题：一个月内：提供免疫荧光或者流式结果。

VI 联系电话

公司电话：0755-28284050

技术支持：19902901483（周博士）