

HepAD38 肝癌细胞系

(可贴壁, Cat# LV-HepAD001)

(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

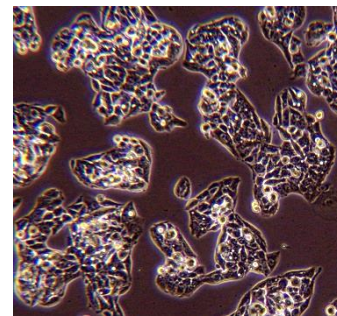
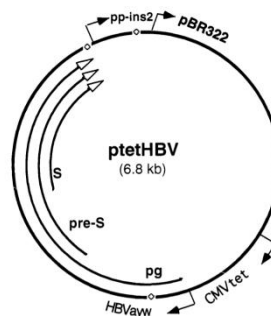
HepAD38 是将 HBV 复制基因(D 基因型)稳定转入 HepG2 肝癌细胞系中, 受四环素 Tet 或者四环素类似物 Doxycycline 调控开关乙肝病毒复制。该细胞系的乙肝病毒复制效率为 HepG2.2.15 的十倍, 主要用于乙肝病毒复制研究、抗病毒药物筛选以及作为乙肝病毒感染性病毒粒子的产毒细胞株。请在生物安全二级实验室 BSL-2 中进行相关实验, 做好个人防护。

II 试剂与材料

- HepAD38 肝癌细胞系
- 常规培养基(DMEM/F12+10%FBS+1%PS+0.3μg/ml Tet)
- 筛选培养基(常规培养基+400μg/ml G418)
- PBS
- 0.5%胰酶
- 移液枪头与移液枪
- 胶原包被板培养瓶
- 恒温水浴锅(37℃预热)
- 生物安全柜
- 离心机
- 37℃/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℃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℃恒温水浴锅中, 将冻存管尽可能多的浸入37℃水中, 顺时针水平摇动, 但必须确保冻存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℃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 的密度接种至胶原包被培养瓶中, 摇匀, 在37℃/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℃ 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℃/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。
8. 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。
9. 建系背景请参文献:
PMID: 9257747
10. 乙肝病毒感染性病毒粒子的制备参考文献:
PMID: 28971350, DOI: 10.1007/s12250-017-3983-x

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）