

Huh7 人肝癌细胞

种属	人
生长特性	贴壁（上皮细胞样）
培养条件	培养基：90%DMEM/F12+10%FBS+1% P/S
培养环境	37°C ， 5%CO ₂ ， 95% AIR
换液周期	2-3 天
消化条件	0.5%胰酶 1-2min
传代比例	1:3-1:4
传代	1. 待细胞长满瓶底面积 80%-90%，需要对其进行传代，传代比例为 1:3-1:4； 2. 用 75%酒精喷洒整个 TC 处理培养瓶消毒，将其平躺至于生物安全柜中，待酒精干后，打开瓶口，将 TC 处理瓶中培养基吸干净； 3. 加 3-4ml 常温 PBS 轻轻润洗细胞，吸走 PBS，可根据细胞背景干净程度决定是否需要润洗两次； 4. TC 处理培养瓶加 1ml 左右已经 37°C预热的胰酶，轻轻晃动培养瓶以使酶均匀覆盖瓶底细胞层； 5. 将培养瓶放入 37°C 培养箱消化； 6. 第一次消化需时常取出置于显微镜下观察，以显微镜下细胞触角回收变圆、轻拍瓶壁见细胞脱落为最佳消化时间，记录最佳消化时间，以便于下次消化，消化好后加入 2-3ml 完全培养基终止

	消化； 7. 用移液枪轻轻吹打瓶壁上的细胞，使之完全脱落，然后收集细胞悬液，300g 常温离心 5min，弃上清； 8. 加入新完全培养基重悬细胞，均匀分到新的培养瓶进行传代培养。
冻存	冻存液配方：45%完全培养基+45%FBS+10%DMSO 1. 消化并进行细胞计数，离心获得细胞沉淀后，加配置好的冻存液轻轻重悬细胞； 2. 将细胞悬液尽快移入已经标记好的冻存管； 3. 将冻存管转入程序冻存盒，放入-80 °C冰箱过夜，第二天转入液氮保存；没有程序冻存盒的实验室，加入细胞后可以将冻存管放在泡沫盒中 4°C 静置 5-10min，在-20 °C静置 2h 后转入-80 °C过夜，第二天转入液氮保存。
供应限制	仅供研究使用
常见问题及解决方案	1. 培养瓶有破裂，培养液漏液：细胞极大可能会污染，要及时反馈，我们会安排帮老师解决； 2. 细胞漂浮：培养瓶不开封，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 80%，进行消化传代；如细胞还是不贴壁，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，中间注意观察，我们的技术人员会一直跟踪指导，直到问题解决。

收货处理方式

	发货形式	T25 培养瓶	冻存管
1	快递保存 温度	室温	液氮长期保存
2	初步平衡	给 T25 培养瓶表面消毒后,放培养箱平衡复温 2h 以上。	无须平衡, 直接液氮罐保存。
3	处理方式	吸走大部分培养基, 留 10-12ml 培养基, 拍照并观察细胞。密度 80% 以上即可吸走培养基消化传代, 若密度低于 80%可以留 10-12 ml 继续培养至细胞密度 80%以上再进行传代培养。	37 °C水浴摇晃尽快融化细胞, 吸取细胞悬液滴加至装有 5ml 预热的完全培养基的 15ml 离心管中。离心转速以 300g 常温 5min 为宜, 弃上清, 沉淀用新鲜培养基重悬后接种到 TC 处理培养瓶中, 显微镜下观察细胞并拍照, 24h 后换液一次。
4	接种方式	传代建议 1:3 传代, 即 1 瓶 T25 传至 3 瓶。	1 管细胞建议接种到 1 个 T25 TC 处理培养瓶中。

5	注意事项	若细胞出现漂浮，T25 培养瓶不开封，放至培养箱过夜，若细胞贴壁即说明活性正常，按正常操作消化传代即可；若未贴壁，收集细胞培养基离心后，将细胞重悬接种到新的培养瓶中，同时原瓶还贴壁的细胞加培养基继续培养，发货 T25 培养瓶装满大约有 75ml 培养基，可以收集起来，300g 常温离心 5min 后，取上清 4℃保存，用于培养细胞，以平稳过渡到研究者自己的培养基。	收货时先检查液氮罐是否完整以及液氮含量，导出液氮罐温度监测数据，查看冻存管是否融化，若已融化需直接复苏细胞接种观察，若未融化可以将细胞按正常步骤保存，以上情况及时反馈。
---	------	--	---