# L-02 细胞使用说明书

## 产品基本信息

	VC D004			
产品货号 	YC-D004			
细胞名称	L-02	中文名称	人正常肝细胞	
细胞形态	上皮样, 贴壁细胞	传代比例	1:2~1:4	
培养体系	80% RPMI-1640+20% FBS			
	源井细胞培养未加双抗,客户可视实际情况选择添加			
冻存液体系	50%RPMI-1640+40%FBS+10%DMSO			
特殊备注				
注意:如收到为活细胞,原瓶罐装培养基仅含 5%血清,需额外补充血清或更换新的完全培养基进行培养。				
CTD 1/5-				
STR 鉴定				

Loci		检细胞 STR 信息 检细胞名:L-C			胞库细胞 STR 信 胞库细胞名: L-	
	Allele1	Allele2	Allele3	Allele1	Allele2	Allele3
D5S818	11	12	海井当	11	12	
D13S317	13.3	13.3		13.3	13.3	
D7S820	12	12		12	12	4.
D16S539	9	10		9	10	
VWA	16	16		16	18	
TH01	7	7		7	7	
AMEL	Х	Х		Х	Х	
ТРОХ	12	12		12	12	
CSF1PO	10	10	-45.15	10	10	

电话: 400-688-9033 网址: www.ubigene.com

地址: 广州市黄埔区瑞吉二街 45 号京广协同 2 号楼 A 栋 12 楼

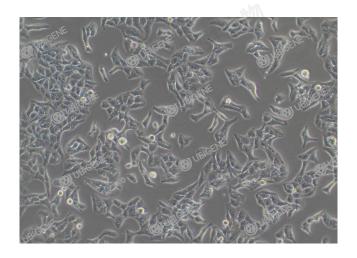
美国办事处: 855 777 3210 欧洲办事处: 800 3272 9252

D12S391	20	20			
FGA	18	21			
D2S1338	17	17	. 140	till)	
D21S11	27	28			
D18S51	16	16	9		- W
D8S1179	12	12			- 源井王
D3S1358	15	18			9) "
D6S1043	18	18			
PENTAE	7	17			
D19S433	13	13			
PENTAD	8	15	_ 12,15	1411	
D1S1656	12	15			

<sup>\*</sup> HeLa 污染细胞系, 暂不出售。

Reviewed by ICLAC (ref: 190616). L-02 was reported to be established from normal liver cells but its STR profile corresponds to HeLa. Samples tested in this study were directly deposited in the cell line repository that performed the investigation. L-02 has a derivative: HL-7702BaPT. No STR profiling information was available for the derivative at the time of review.

## 细胞培养形态图







电话: 400-688-9033 网址: www.ubigene.com

地址:广州市黄埔区瑞吉二街 45 号京广协同 2 号楼 A 栋 12 楼

美国办事处: 855 777 3210 欧洲办事处: 800 3272 9252

- 东存细胞:如果是干冰运输的冻存细胞,收到后请立即转入液氮储存或短暂 (24H)放至-80℃冰箱保存,或直接进行细胞复苏。
- 2) 活细胞:如果是 T25 瓶活细胞运输,收到后用 75%的酒精对 T25 瓶外表面进行消毒,之后放在 5%CO2、37℃的细胞培养箱静置 2h,静置后取出细胞瓶在显微镜下观察细胞贴壁情况和细胞 汇合度,分别在 100X 和 40X 下各拍 2 个不同视野的细胞拍照记录。如果汇合度达到 80%以上 的传代密度,可以进行传代操作,如果细胞汇合度没有达 80%以上不够传代,弃掉瓶内培养基,更换新鲜完全培养基。(灌满细胞培养基不能正常用来培养细胞。)

注意:收到细胞后,活细胞首先观察细胞瓶是否完好,培养液是否漏液、浑浊等现象。冻存细胞若发现干冰已挥发完、冻存管瓶盖脱落、破损等异常情况,请务必**拍照保留**,并于收货 24h 内与我们联系(电话: 400-688-9033; https://www.ubiqene.com)。

#### 细胞复苏

- 准备工作:将完全培养液置 37℃水浴锅预热 30 分钟,随后将冻存的细胞从液氮中取出,转移到-80℃冰箱,放置数分钟让残余液氮挥发;
- 2) 在超净台内用吸管吸取 6-7 mL 完全培养液至 15 mL 离心管中;
- 3) 将细胞从-80℃冰箱取出暂时放置于干冰里,复苏时稍稍甩动,去除残留的干冰和液氮,再迅速用镊子夹住盖子放入37℃水浴中快速晃动(注意:水不能没过盖子),使其在1分钟左右完全融化;
- 4) 在超净台内,用酒精棉球擦拭冻存管外壁消毒,稍稍晾干。用单道移液器将所有融化的细胞悬液 转至提前准备好的完全培养液中,盖上盖子,1100 rpm 室温离心 4 分钟收集细胞;
- 5) 超净台内小心吸弃上清,用单道移液器吸取 1 mL 新鲜完全培养液重悬细胞至单细胞悬液,再转移至装有 4 mL 完全培养液的 T25 cm² 培养瓶(或者 6cm 的皿)中,写上细胞名称、复苏日期、代次,放置 37℃、5% CO2 饱和湿度培养箱内培养。

到源井生物

注意:请勿直接复苏到 T75 cm<sup>2</sup> 瓶或 10cm 的皿。



电话: 400-688-9033

网址: www.ubigene.com

地址:广州市黄埔区瑞吉二街 45 号京广协同 2 号楼 A 栋 12 楼

美国办事处: 855 777 3210 欧洲办事处: 800 3272 9252

### 细胞传代

- 1) 常规细胞长至80%-90%汇合度即可传代。在超净台内把培养瓶里的培养液倒至废液缸,用1×PBS(T25 cm²培养瓶添加约2~3mL, T75 cm²培养瓶约4~5 mL)洗涤细胞1~2次,以去除残余的培养液和血清(血清含有胰酶的抑制因子);
- 2) 加入相应体积的胰酶溶液,具体参考附表 1, 轻轻晃动瓶子并使胰酶完全浸过细胞, 将培养瓶放入培养箱孵育 1~2 分钟(若细胞难以消化,可适当延长孵育时间), 待在显微镜下观察到大部分细胞变圆不贴壁, 轻轻晃动和敲击培养瓶两侧有大量细胞脱离时,立即终止消化;
- 3) 加入 2 倍胰酶体积的完全培养液终止消化,并轻吹打细胞数次,使所有细胞彻底脱壁; (注意:吹散细胞时注意要轻柔,尽量不产生气泡或尽可能产生少量气泡。);
- 4) 用 10 mL 移液管转移细胞悬液到一支 50 mL 离心管中,同一批次的细胞可以合并收集在一起,视情况用适量 PBS 将培养瓶里的残余细胞洗下来,一起加到 50mL 离心管中。盖上盖子,做好标记;
- 5) 1100 rpm 室温离心 4 分钟,离心后,打开盖子弃上清,加 2mL 完全培养基重悬细胞;
- 6) 细胞按照一定的接种比例传代,首次按照 1:3 进行传代,若细胞在两天内长满可增加传代比例。<br/>
  例,若细胞生长三四天还未长满,可适当缩小传代比例。

表 1 不同规格培养物加入胰酶体积列表

培养物规格	胰酶体积
6 孔板	0.5 mL
T25	1 mL
T75	2-3 mL
T175	3-4 mL

到源井生物

细胞冻存



电话: 400-688-9033

网址: www.ubigene.com

地址:广州市黄埔区瑞吉二街 45 号京广协同 2 号楼 A 栋 12 楼

美国办事处: 855 777 3210 欧洲办事处: 800 3272 9252

- 1) 按细胞传代的方法,在超净台内把培养瓶里的细胞进行消化至单细胞悬液,加入培养基终止反 应。所有液体转移到一支 50 mL 离心管中。
- 2) 用移液管吹打混合均匀, 取 20 µL 进行细胞计数;
- 3) 1100 rpm 室温离心 4 分钟,离心后,打开盖子倒去上清,用 1~2 mL 4℃预冷的冻存液重悬细 胞, 随后加入冻存液调整至密度为 1x10<sup>6</sup>-1x10<sup>7</sup> 个细胞/mL。
- 4) 将细胞悬液按 1 mL/管平均分装至冻存管中,旋紧盖子,冻存管应提前贴好细胞名称、细胞代 次、数量、冻存日期;
- 5) 将冻存管放置于 4℃预冷的程序降温盒中,并在冻存结束的 15 分钟之内将程序降温盒放置超低 温冰箱内; 回清特生物

回源洋生物

6) 过夜后,将冻存细胞转移至液氮罐内保存。

电话: 400-688-9033 网址: www.ubigene.com

地址: 广州市黄埔区瑞吉二街 45 号京广协同 2 号楼 A 栋 12 楼

美国办事处: 855 777 3210 欧洲办事处: 800 3272 9252