

## HK-2 人肾上皮细胞

### 使用说明书

细胞名称 Cell name	HK-2 人肾上皮细胞
货号 NO.	ZQ 0313
描述 Description	人肾上皮细胞
种属 Species	人
组织来源 Tissue	肾, 皮质/近曲小管
形态 Morphology	上皮细胞
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性, 必须在二级生物安全台内操作, 并注意防护
培养基 Culture Medium	<b>配套完全培养基: 中乔新舟 货号: <a href="#">ZQ-1317</a></b> 温度: 37℃ 气相: 95%空气, 5%二氧化碳
细胞复苏 Cell Thawing	<p><b>注意:1.低温保存的细胞非常脆弱, 请将冻存管放入 37℃ 的水浴中解冻, 尽快复苏细胞。</b></p> <p><b>2.提前室温预热培养基。</b></p> <p><b>3.该细胞贴壁较慢, 为使细胞贴壁更容易, 可提前在培养皿/培养瓶中铺 0.2% 或 0.25% 的明胶溶液, 并于贴壁 24~48 小时后再进行后续操作。</b></p> <p>1. 在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶分别加入约 3ml 和 7ml 培养基。</p> <p>2. 将冻存管放入 37℃ 水浴中, 握住冻存管晃动, 直到内容物完全融化。立即将冻存管从水浴中取出, 擦干并喷洒 75% 乙醇, 移至无菌区。</p> <p>3. 小心地拆卸盖子, 不要碰到里面的螺纹, 用移液枪轻轻吸出细胞, 加入到准备好的 15ml 离心管中 1000rpm, 5min 离心。</p> <p>4. 弃上清, 轻弹管底将细胞弹散, 加入约 1ml 培养基重悬细胞并转入 T-25 培养瓶中, 轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。如有必要, 松开阀盖, 以便气体交换。</p> <p>5. 将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</p> <p>6. 24-48h 后观察细胞形态和数量, 更换培养基, 注意轻拿轻放。</p>
传代 Subculturing	<p>收到细胞后, 请对细胞培养瓶外表进行消毒, 将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲, 待细胞恢复基本生长状态后, 进行后续细胞实验。</p> <p>在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况:</p> <p>(一) 细胞未长至 80% 时, 用 75% 酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内, 严格无菌操作, 打开细胞培养瓶, <b>若培养瓶上无特殊标注</b>, 吸去剩余培养液, 只留 6-8ml 培养液继续培养。</p>

	<p>(二) 细胞已长满 (达 80%左右), 即可进行传代, 具体步骤如下:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 弃去培养液, 用 PBS 洗涤 1-2 次;</li> <li>2. 加入 1.0ml 0.05%胰酶消化液, 37°C 消化约 2min, 显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落, 则迅速拿回操作台, 加入中和液并轻轻吹打细胞 1-2 次, 使其变成单细胞悬液;</li> <li>3. 将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min, 弃上清, 轻弹管底, 将细胞弹散;</li> <li>4. 加入新鲜培养基重悬细胞, 进行传代;</li> <li>5. 如果没有特别说明, 建议收到细胞后传代比例为 1:2。</li> </ol> <p><b>注:</b> 1. 观察细胞密度最好用 (4X 物镜) 低倍镜观察, 以便正确的判断细胞密度; 观察细胞形态请用 (10X 或 20X) 高倍镜观察;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. 推荐使用 <b>0.05%胰酶</b>/EDTA 消化液;</li> <li>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用, 请换新鲜培养液培养;</li> <li>4. 有些细胞贴壁不牢, 如发现贴壁细胞有脱落, 可离心 <b>重悬</b>后接种到新瓶内。</li> </ol>
<p>备注 Remarks</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <u>该细胞贴壁较慢, 为使细胞贴壁更容易, 可提前在培养瓶或培养皿中铺 0.2%或 0.25%的明胶溶液, 并于贴壁 24-48h 后再进行操作。</u></li> <li>2. <u>该细胞生长不能过密, 请在生长密度 80%左右进行传代或冻存, 此细胞增殖速度较慢, 建议 2-3 天更换培养基, 之后传代比例为 1:2-1:3。</u></li> <li>3. <u>消化时请将 0.25%胰酶进行稀释后消化或直接使用 0.05%胰酶进行消化。同时由于该细胞培养液无法终止胰酶消化, 建议使用 RPMI-1640+10%FBS 将其终止消化, 之后必须通过离心去除胰酶, 再进行后续操作。</u></li> <li>4. <u>在培养基中看到许多圆形, 漂浮和折射细胞是正常情况, 不应丢弃松散附着和圆形的漂浮细胞, 收集离心后可以重新加入到培养瓶中。</u></li> </ol>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件: 无血清细胞冻存液 (中乔新舟 <a href="#">货号: CSP042</a>) 保存条件: 液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂, 漏液等, 如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</li> <li>2. 贴壁细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 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, 剩余少量漂浮的细胞可以去掉, 留 8-10ml 培养液培养观察, 细胞生长至汇合度到达 85%左右, 进行消化传代; 如细胞仍不贴壁, 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, 注意观察。如细胞仍不能贴壁, 请用台盼蓝染色鉴定细胞活力, 并及时拍照 (多倍数多视野), 包括染色照片, 并联系我们。(以上仅为贴壁细胞处理方法)</li> <li>3. 悬浮细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞及培养液分批离心 (1000rpm, 5min), 加入适量培养基, 根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。(以上仅为悬浮细胞处理方法)</li> <li>4. 半悬细胞: 培养瓶不开封, 显微镜下检查细胞状态, 瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察, 将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心 (1000rpm, 5min), 重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大, 可将贴壁细胞消化下来, 与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件, 防止贴壁细胞缺乏营养。(以上仅为半悬细胞处理方法)</li> </ol> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系, 我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>