

## MHCC97-H-GFP+LUC 人肝癌细胞（高转）-绿色+荧光素酶标记

### 使用说明书

细胞名称 Cell name	MHCC97-H-GFP+LUC 人肝癌细胞（高转）-绿色+荧光素酶标记
货号 NO.	LG0031
描述 Description	复旦大学中山医院肝癌研究所在研究 MHCC97 时发现其是异质性很强的细胞群。部分细胞有很强的致瘤性和转移力，而部分则较弱。因此分离建立了高低转移性不同的肝癌细胞株 MHCC97-H 和 MHCC97-L。据报道 MHCC97-H 存在较高的干细胞样的侧群细胞（SP）。肝癌 SP 细胞具有极高的致瘤性，并可能和肝癌转移潜能相关。再用人肝癌细胞株 MHCC97-H 接种裸鼠，进行 3 次肺转移筛选，取肺转移瘤建成皮下接种后高度自发性肺转移的肝癌细胞系 MHCC97-LM3。
种属 Species	人
组织来源 Tissue	
形态 Morphology	
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒感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
产品描述 Product description	通过慢病毒感染的方式使 MHCC97-H 细胞稳定表达绿色荧光蛋白 (Green Fluorescent Proteins) 和萤火虫荧光素酶 (firefly luciferase)，感染后经嘌呤霉素 (puromycin) 筛选获得稳转细胞株，具体操作过程详见检测报告。建议收到细胞后先进行观察，并及时向我们反馈；扩增时用含 puro (2-4ug/ml) 的完全培养基维持培养，若没有进行检测影响了您的实验，本公司将不承担您的实验损失。
培养基 Culture Medium	推荐自配培养基：DMEM 高糖（中乔新舟 货号： <a href="#">ZQ-100</a> ）+10%胎牛血清（货号： <a href="#">ZQ500-A</a> ）+1%双抗（货号： <a href="#">CSP006</a> ） 配套完全培养基：（中乔新舟 货号： <a href="#">ZQ-101</a> ） 温度：37°C 气相：95%空气，5%二氧化碳
细胞复苏 Cell Thawing	注意：1. 低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。 2. 提前室温预热培养基。 1. 在无菌区准备好 15ml 离心管和 T-25 培养瓶并分别加入 5ml 完全培养基； 2. 将冻存管放入 37°C 水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后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； 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悬液，加入到准备好的 15ml 离心管中， <b>1000rpm 离心 5min</b> ； 4. 弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好

	<p>的 T25 培养瓶（建议加液量：5~7ml）；</p> <p>5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要（如使用不透气瓶），松开阀盖，以便气体交换。</p> <p>6.将培养瓶放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。</p>
<p>传代 Subculturing</p>	<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 85%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，若培养瓶上无特殊标注，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 85-95%）。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 胰酶消化液，37℃ 消化(消化时间根据不同细胞及所用胰酶有所差异)，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，加入至少双倍的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞 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，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</li> </ol> <p><b>注：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；</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. 推荐使用 0.25%胰酶/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，可离心重悬后接种到新瓶内。</li> </ol>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：无血清细胞冻存液（中乔新舟 货号：CSP042）</p> <p>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，并请及时拍照（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</li> </ol>

上仅为半悬细胞处理方法)

如遇到细胞培养问题请及时拍照与我们联系, 我们的技术人员会一直跟踪指导。