

## HepG2-EGFP 细胞培养说明

货号: CG014

培养基: MEM (含 NEAA) (gibco 货号: 41500083) 培养基+10%胎牛血清

消化液: 0.25%胰蛋白酶, 0.53mM EDTA

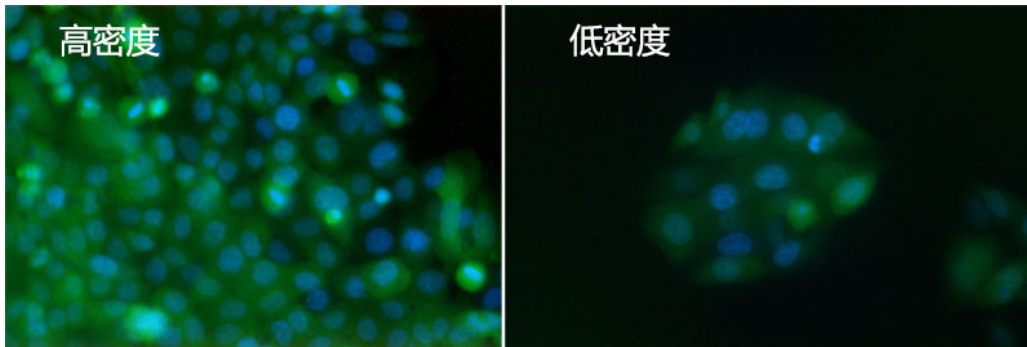
冻存液: 50%胎牛血清, 40%DMEM, 10%DMSO

培养条件: 37°C, 5% CO<sub>2</sub>

### 细胞系构建简介:

慢慢病毒载体 pLV-EGFP-C (货号 VL3215) 包装慢病毒后感染 HepG2 细胞, 用嘌呤霉素筛选得到 EGFP 过表达多克隆细胞株。然后采用有限稀释法得到单细胞克隆。

细胞荧光照片:



40×物镜观察, DAPI 染色细胞核

### 收到细胞的处理:

根据客户所在地及发货季节, 我们可能采用干冰运输的冻存细胞或者常温运输的培养瓶细胞两种不同形式发货。收到细胞后根据细胞运输类型采用下面两种方式操作。

干冰运输细胞:

- 1、37°C 水浴融化细胞冻存液, 间或摇动冻存管以加速融化过程。待细胞冻存液完全融化后, 用 70%乙醇消毒细胞冻存管外壁。
- 2、室温 200g 离心 5 分钟收集细胞。吸去上清。
- 3、用 1ml 培养基重悬细胞。
- 4、将细胞接种到 6mm 培养皿或 25cm 培养瓶中, 补加 5ml 培养基, 37°C 5%CO<sub>2</sub> 培养。。

常温运输细胞:

在显微镜下观察已收到的细胞，根据细胞状态采取不同方法处理。

- 1、如果细胞大部分贴壁且密度不高，则去除细胞原培养基，加入 5ml 新鲜培养基即可。
- 2、如果细胞大部分贴壁且密度较高，则按照常规方法消化细胞，传代分瓶培养。
- 3、如果细胞脱落较多，采用下面步骤处理：
  - a) 将原培养基析出装入 50ml 离心管。200g 离心 10 分钟。
  - b) 去除上清，用 5ml 培养基重悬细胞，将细胞重悬液接入一新的 10cm 培养皿培养。
  - c) 在原细胞培养瓶中重新添加 5ml 培养基进行培养。
  - d) 第二天视细胞密度和状态，换液或传代。

#### 细胞传代：

- 1、传代前将细胞培养液、PBS 和胰蛋白酶温浴到 37℃。
- 2、吸去细胞培养液。
- 3、用 PBS 漂洗一次。
- 4、加入适量胰蛋白酶，轻轻晃动细胞瓶，使胰蛋白酶均匀覆盖细胞。吸去胰蛋白酶，将培养瓶放置在细胞培养箱中，37 摄氏度消化。在倒置显微镜下观察，看到细胞分开及稍微变圆即可，过度消化可能导致细胞贴壁困难。
- 5、加入 5ml 细胞培养基，用吸管轻柔吹打分散细胞。
- 6、按 1:3 到 1:5 接种细胞。

#### 细胞冻存：

- 1、将细胞培养液、PBS 和胰蛋白酶和冻存液温浴到 37℃。
- 2、冻存的细胞应为状态好，生长旺盛的细胞。
- 3、按细胞传代方法消化细胞，用适量细胞培养液终止消化，重悬细胞。
- 4、室温 200g 离心 10 分钟收集细胞，用冻存液重悬细胞，并调节浓度至大约  $1 \times 10^6$  个细胞/ml。分装到细胞冻存管。
- 5、将细胞冻存管放入程序降温盒，-80℃ 过夜。
- 6、将冻存的细胞转入液氮中。