

## BNL CL.2 小鼠胚胎肝细胞 Mouse Embryonic Liver Cells; BNL CL.2

### 细胞介绍

在用鸟氨酸和苯丙氨酸代替精氨酸和酪氨酸的平板上选择建立了这株细胞。检测表明肢骨发育畸形病毒(鼠痘)阴性。

### 细胞特性

- 1) 来源: 小鼠肝
- 2) 形态: 上皮细胞样
- 3) 含量:  $>1 \times 10^6$  个/mL
- 4) 污染: 支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) 规格: T75 瓶或者 1mL 冻存管包装

### 运输和保存

- (1) 使用 T25 瓶充液发送活细胞。
- (2) 收到细胞后, 请先在显微镜下检查细胞生长状态, 并将 T25 瓶置于培养箱约 6h 或过夜后, 再次检查细胞状态。若状态良好, 可进行细胞后续处理操作, 按照以下方式进行。若发现可疑污染物, 请及时与我们联系。

#### 一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 准备 DMEM-H 培养基(DMEM-H, 添加  $\text{NaHCO}_3$  1.5g/L), 90%; 胎牛血清, 10%, 添加 1% PS。
- 2) 培养条件: 气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%。 温度: 37 摄氏度, 培养箱湿度为 70%-80%。
- 3) 冻存液: 90%完全培养基, 10%DMSO, 现用现配。液氮储存。

#### 二. 细胞处理:

**1) 复苏细胞:** 将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加入 4mL 培养基混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜(或将细胞悬液加入 250px 皿中, 加入约 8ml 培养基, 培养过夜)。第二天换液并检查细胞密度。

**2) 细胞传代: 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。对于贴壁细胞, 传代可参考以下方法:**

- 1、弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。
- 2、加 2ml 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mM EDTA) 于培养瓶中, 置于 37°C 培养箱中消化 1-2 分钟, 然后在显微镜下观察细胞消化情况, 若细胞大部分变圆并脱落, 迅速拿回操作台, 轻敲几下培养瓶后加少量培养基终止消化。
- 3、按 6-8ml/瓶补加培养基, 轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养液后吹匀。
- 4、将细胞悬液按 1: 2 到 1: 5 的比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。

**3) 细胞冻存:** 待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时, 弃去培养基后加入少量胰酶, 细胞变圆脱落后, 加入约 1ml 含血清的培养基后加入冻存管中, 再添加 10%DMSO 后进行冻存。



**注意事项:**

- 1、所有动物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，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
- 2、建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。

**使用范围**

本产品仅限于科学研究，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

