

人红白细胞白血病细胞 HEL

产品基本信息

细胞名称：HEL，人红白细胞白血病细胞

种属来源：人

组织来源：外周血

细胞形态：淋巴母细胞样

生长特性：悬浮生长

培养基：RPMI-1640+10% FBS+PS。

生长条件：气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37℃

传代方法：1:2 至 1:4，每周 2-3 次

冻存条件：无血清冻存液，液氮储存

支原体检测：无

细胞培养操作

贴壁细胞参考：

一.消毒静置等细胞稳定后拍照 100X 和 200X。弃去培养上清，用 PBS 润洗细胞 1-2 次并吸走。

二. T25 瓶加入 0.25%EDTA 胰蛋白酶 1-2ml 于培养瓶中震荡混匀，如果属于贴壁不牢固的细胞很容易脱落的就培养箱外面消化震荡待脱落 90%以上终止消化，一般小于 1 分钟以内，甚至不加胰酶有部分贴壁非常不牢固的细胞也会自然震荡脱落。如果是贴壁牢固的细胞则置于 37℃培养箱中消化提高效率，每 40-50 秒拿出培养箱震荡帮助细胞脱落，如脱落 90%以上则对应 3-6ml 含有 10%血清的完全培养基终止彻底，以防胰酶残留损伤细胞。如果贴壁非常牢固的细胞，脱落的比例比较低，也不超过 2 分钟后终止消化彻底，再加入 1ml 完全培养基让细胞缓冲后再过 2 分钟进行二次消化，反复分步消化以降低单次消化时长，减少刺激，保护细胞膜。或采用刮产刮细胞的方式处理也可以。总归原则是达到消化目的的同时减少细胞膜受到的损伤越小越好。

三.消化完成后轻轻吹匀后吸出，在 1000RPM 条件下离心 3-5min，弃去上清液，

补加 1-2mL 培养液后吹匀。将细胞悬液按 1: 2 的比例分到新 T25 瓶/6cm 培养皿中, 添加 6-8ml 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力, 后续传代根据实际情况按 1:2 和以上比例进行, 具体以实际细胞密度决定。期间多的细胞一定保存多份细胞冻存管备种。

悬浮细胞参考:

大多数悬浮细胞对于环境比较敏感, 建议一直维持高密度生长, 一般情况下细胞密度维持在 1×10^5 到 1×10^6 个/mL (不同细胞对密度要求不同)。如需分瓶可以将细胞悬液收集到离心管中 800-1000rpm, 离心 5min, 弃去上清, 补加 1-2mL 培养液后重悬混匀后将细胞悬液按 1: 2 的比例 (首次可以 1:1 分瓶) 分到新 T25 瓶中, 添加 5-6ml 按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力, 后续传代根据实际情况按 1:2 和以上比例进行。大多数血液类相关的悬浮细胞受运输影响比较大, 会出现一批死细胞, 如果因此密度降低了, 可以离心后转移至 T25 瓶中竖着培养, 培养基添加 5ml 以提高总体密度, 隔一天后观察密度可以的话再补液 3ml 完全培养基后 T25 瓶放倒, 等沉淀稳定后观察细胞密度, 持续添加培养基等密度上升足够传代为止。

培养注意事项

1. 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好, 培养液是否有漏液、浑浊等现象, 若有上述现象发生请及时和我们联系。
2. 仔细阅读细胞说明书, 了解细胞相关信息, 如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等, 确保细胞培养条件一致, 若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题, 责任由客户自行承担。
3. 用 75%酒精擦拭细胞瓶表面, 显微镜下观察细胞状态。因运输问题, 部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片, 是正常现象。**观察好细胞状态后, 75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃培养箱放置 4-6h。**
4. 贴壁细胞可以消化, 悬浮细胞直接混匀收集细胞, 900 rpm-1000 rpm 离心 3 min, 弃上清。加 5 mL PBS 重悬细胞, 再 900 rpm-1000 rpm 离心 3 min, , 用新鲜的完全培养基重悬细胞, 并接种到新的培养瓶或培养皿中, 置于培养箱中进行培养。

5. 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养。
6. 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和我司技术部沟通交流。由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
7. 该细胞仅供科研使用。
8. 备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 1: 2 传代。
9. 注意：1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿。

悬浮细胞收货注意事项：

1、收货时需镜下拍照（看密度、状态）

2、静置后需镜下拍照（看整体密度）

- a. 如密度 50%以下，建议换液并竖瓶培养
 - b. 如密度 50%-80%，建议换液培养，隔天观察密度
 - c. 如密度 90%，建议传代
- 3、换液及传代处理前，培养瓶竖着放置至少半小时（使细胞沉到瓶底）；收集上清，必须将瓶内所有培养基（70ml）全部收集！并用 PBS（10ml）润洗瓶底并收集！离心转速为 1000rpm，5min。