

人食管上皮细胞 HET-1A

产品基本信息

细胞名称：HET-1A ， 人食管上皮细胞

种属来源：人

组织来源：食管

细胞形态：上皮细胞样

生长特性：贴壁生长

培养基：： BEBM 基础培养基以及所有添加剂可以从 Lonza/Clonetics Corporation 以试剂盒形式获得： BEGM。 ATCC 不使用 BEGM 试剂盒提供的 GA-1000。

生长条件： 气相： 95%空气+5%二氧化碳； 温度： 37℃

传代方法： 1:2 至 1:3， 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

注意：该细胞贴壁不牢，收货拍照后应静置 4-6h 后再观察处理；可适当加 2-5%血清促进细胞贴壁。

细胞培养操作

1) **复苏细胞**： 将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻， 加 4 mL 培养基混合均匀。 在 1000 rpm 条件下离心 5 min， 弃去上清液， 加 1-2 mL 培养基后吹匀。 然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 6 cm 皿中， 加入约 4 mL 完全培养基， 培养过夜）。 第三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。

a、 弃去培养上清， 用不含钙、 镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

b、 加 1 mL 消化液（0.25%Trypsin-0.02% EDTA）于培养瓶中， 使消化液浸润所有细胞， 将培养瓶置于 37℃ 培养箱中消化 1-3 min（视细胞情况而定）， 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， 加 2-3ml 完全培养基终止消化。 轻轻打匀后装入无菌离心管中， 1000 rpm 离心 5 min， 弃去上清液， 补加 1-2 mL 培养液后吹匀。

c、 将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8 mL 培养基的新皿中或者瓶中， 置于培养箱中培养。

3) **细胞冻存**： 待细胞生长状态良好时， 可进行细胞冻存。 下面 T25 瓶为例：

a、 收集细胞及细胞培养液， 装入无菌离心管中， 1000 rpm 条件下离心 4 min， 弃去上清液， 用 PBS 清洗一遍， 弃尽 PBS， 进行细胞计数。

b、 根据细胞数量加入无血清细胞冻存液， 使细胞密度 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ /mL， 轻轻混匀， 每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液， 注意冻存管做好标识。

c、 将冻存管放入 -80℃ 冰箱， 24 h 后转入液氮灌储存。 记录冻存管位置以便下次拿取。

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，**干冰运输的细胞检查干冰是否完全挥发，细胞是否解冻**，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 2-4h。**
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。**