

# 产品说明书

## MHCC97-L-GFP

### 人肝癌细胞（低转）-绿色标记

|       |  |
|-------|--|
| 名 称：  | MHCC97-L-GFP 人肝癌细胞（低转）-绿色标记  |
| 货 号：  | GZQ0044  |
| 描 述：  | MHCC97-H, MHCC97-L 和 MHCC97-LM3 都是肝癌细胞衍生的细胞株。为 HBV 阳性。形态上皮细胞样，贴壁 培养基 DMEM 高糖, 90%; FBS, 10% 复旦大学中山医院肝癌研究所<br><br>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。<br><br>该细胞通过慢病毒转染的方式携带 GFP 基因。 |
| 形 态：  | 上皮细胞样  |
| 培养特性： | 贴 壁  |
| 培养条件： | 95%空气, 5%二氧化碳; 37°C  |

### 【培养须知&重点】

该细胞为稳定转染 GFP 的细胞，随细胞传代次数的增加，其 GFP 荧光强度会逐渐减弱。若实验要求需要维持荧光强度，可以加入嘌呤霉素进行再次筛选。建议收到细胞后至少传 3 代，冻存留种后再进行筛选；如若是细胞冻管，复苏时先不添加药物，待细胞状态长好后，传代保种后再进行筛选。

初次进行细胞筛选时，建议加入终浓度为 1ug/ml 嘌呤霉素的完全培养基维持培养，若无细胞漂浮或者漂浮较少，即可更换为含 2ug/ml 嘌呤霉素的完全培养基继续筛选，可在显微镜下观察 GFP 荧光亮度，若细胞表达 GFP 高，使用 2ug/ml 维持培养即可，若亮度还不足，可以梯度递增添加嘌呤霉素进行筛选。若筛选过程中，漂浮细胞大于 40%，则停止筛选，换成正常培养基培养，至细胞密度约 80%，可继续加入同浓度嘌呤霉素进行筛选。直到细胞正常增殖，GFP 表达高，可停止筛选，用不含药完全培养基正常培养。该细胞筛选过程中，最高嘌呤霉素浓度已添加至 4ug/ml。

请务必在动物实验前再次进行检测，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。

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站：[www.zqxzbio.com](http://www.zqxzbio.com)  
电话：400-038-9959  
邮箱：[sales@zqxzbio.com](mailto:sales@zqxzbio.com)



# 产品说明书

## 【培养试剂&培养条件】

|            |  |
|------------|--|
| 推荐自配试剂配方:  | DMEM 高糖 (中乔新舟 货号: ZQ-100) + 10% 胎牛血清 (货号: ZQ500-A)<br>+ 1% 双抗 (货号: CSP006) |
| 推荐专用培养基货号: | ZM0019   |
| 推荐胰酶货号:    | CSP045   |
| 推荐冻存液货号:   | CSP042   |
| 传代比例       | 1: 3-4   |
| 换液频率       | 2-3 次/周  |

## 【细胞培养操作方法】

### 一、运输方式:

1. 1. 干冰运输: 1mL 冻存管干冰运输, 及时拍照记录有无管壁破损现象, 完好立即转入 -80 度冰箱保存过夜, 再转入液氮保存或直接复苏, 若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损, 请立即与我们联系。
1. 2. T25 瓶复苏的存活细胞常温发货, 收到后及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象, 用 70% 酒精消毒细胞培养瓶各个表面后, 满瓶培养基状态置于培养箱中静置培养 2~4h 后进行操作; 悬浮细胞请将培养瓶竖立在培养箱静置, 贴壁细胞/半贴壁半悬浮细胞平放静置, 在此期间, 请查看说明书以确定细胞属性。请拍 4X、100X、200X 各 2-3 张照片作为售后时收到时细胞状态的依据。
  1. 2. 1. 细胞密度为 80% 左右时需传代。
  1. 2. 2. 细胞密度小于 70% 且无细胞脱落情况下, 吸除部分培养基, 瓶内保留 5 毫升培养液, 继续培养。  
**(灌装培养基需要是完全培养基)。**

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站: [www.zqxzbio.com](http://www.zqxzbio.com)  
电话: 400-038-9959  
邮箱: [sales@zqxzbio.com](mailto:sales@zqxzbio.com)



【公司官网】

【公众号】

# 产品说明书

## 二、传代培养：

1. 细胞有脱落情况时，将培养液转移到无菌离心管中，离心（125g，3~5分钟）1000-1200rmp 收集悬浮细胞（漂浮细胞少，可能无沉淀，大部分在管壁上）；轻柔去除培养基，等贴壁细胞消化收集在一起混匀接种。
2. 贴壁细胞用 PBS 洗 1~2 次，每次 3-5ml，添加 1ml 胰酶（0.25% 含 EDTA）到细胞瓶中，轻轻摇匀，使胰酶溶液铺满细胞表面，放入培养箱中。1-3min 后取出到显微镜下观察，(若细胞无变化继续放入培养箱消化)一旦细胞变圆、轻拍瓶尾部大部分细胞开始脱落，当达到 70-80% 细胞漂浮脱落，立即加入 5ml 完全培养基（含 10% FBS）**中和**。用移液管轻轻吹打 6-8 次，使细胞充分解离。
3. 将细胞悬液转移到无菌离心管中，计数，离心收集细胞。用适量完全培养基重悬细胞沉淀，使细胞密度为每毫升  $0.6-2 \times 10^5$ 。将细胞悬液转至培养瓶中，静置于培养箱中。**建议 T25 培养瓶添加 5-7ml 完全培养基**，以后 2-3 天进行换液。

## 三、细胞冻存步骤：

1. 细胞密度 80% 以上，活细胞百分率达 95% 以上时，将细胞按照以上步骤进行消化收集细胞沉淀进行冻存。
2. 细胞沉淀用适量 4°C 冻存液（货号：CSP042）重悬，**建议一瓶 T25 细胞冻存一管（1ml/管）**，直接将分装好的细胞冻存管置于 -80°C 超低温冰箱中过夜，若需液氮长期保存，需先置于 -80°C 至少一天后方可转至液氮罐中。

**NOTE:** 若不是我司冻存液请按照冻存液说明书操作，若是自配冻存液需梯度降温冻存（2-8°C，放置 40min；-20°C，放置 30min-60min，-80°C 放置一天后转移至液氮保存）或使用程序降温盒降温后，再转移至液氮中保存。

## 四、冻管细胞复苏：

1. 液氮取出的细胞放入干冰中转移至细胞房，提前准备好完全培养基，离心管等试剂和耗材。
2. 冻管细胞在 37°C 水浴中迅速解冻（大约 1-2 分钟）。为了减少污染的可能性，保持冻管瓶盖在水浴液面之上。一旦大部分内容物解冻，立即将冻管移出水浴，70% 的乙醇消毒冻管外壁。
3. 将内容物转移到含 3-6mL 完全培养基的离心管中，轻轻混匀，离心（125 g，3~5 分钟）1000-1200rmp 去除培养基，管底细胞沉淀用手指弹松，再添加 3ml 完全培养基至离心管内混匀细胞并进行计数。
4. 用适量完全培养基将细胞密度调整至  $0.6-2.0 \times 10^5$ ，转移至培养瓶中，再将瓶转移至培养箱中静置培养。**T25 培养瓶建议添加 5-7ml 完全培养基**。当密度达到 80% 以上时传代。

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站：[www.zqxzbio.com](http://www.zqxzbio.com)  
电话：400-038-9959  
邮箱：[sales@zqxzbio.com](mailto:sales@zqxzbio.com)



**【公司官网】**

**【公众号】**

# 产品说明书

## 中乔新舟文献奖励

凡使用中乔新舟的产品的客户，在SCI期刊发表文献，且在文献中标注产品来源于“Shanghai Zhong Qiao Xin Zhou Biotechnology Co., Ltd.”或“ZQXZbio”，且标注相应产品名称及货号，均可参与活动。自2024年1月1日起，中乔新舟文献奖励按照如下规则进行：

### 文献引用奖励

| SCI期刊杂志 | 影响因子      | 奖励      |
|---------|-----------|---------|
|         | 1≤IF<5分   | 1000 积分 |
|         | 5≤IF<10分  | 2000 积分 |
|         | 10≤IF<15分 | 3000 积分 |
|         | 15≤IF<25分 | 6000 积分 |
|         | IF≥25分    | 8000 积分 |

备注：积分可用于积分商城礼品兑换，1000积分等同于100元实物礼品。

#### 活动说明：

1. 申请人文献已发表，且为第一作者或第一通讯作者；
2. 文献发表于2022年7月1日后
3. 提供文献全文（PDF格式）提供的实验数据、图片、文献等相关信息可在我司官网、微信公众号等推广渠道发布做展示使用；
4. 每篇文献仅限领取一次奖励；
5. 影响因子（IF）以申请奖励时为准；
6. 本活动最终解释权归上海中乔新舟生物科技有限公司所有。

#### 奖励申请流程：

1. 关注中乔新舟公众号，发送“文献奖励申请表格”即可。
2. 完整填写申请表格，审核无误后，经公司审核通过后，我们将在10个工作日内与申请人联系并发放积分；
3. 如有疑问，发送邮箱即可联系我们 jw@zqxzbio.com。
4. 关注中乔新舟公众号—点击关于我们—点击文献奖励即可了解信息。

上海中乔新舟生物科技有限公司

网站：[www.zqxzbio.com](http://www.zqxzbio.com)  
电话：400-038-9959  
邮箱：[sales@zqxzbio.com](mailto:sales@zqxzbio.com)



【公司官网】



【公众账号】