



Hepatosight[®]

产品说明书

目录

1. 产品信息1

 拆箱&管理.....2

 产品&描述.....3

 注意事项&用户须知.....4

2. 介绍5

3. 细胞培养前准备6

 所需材料设备和耗材(未提供).....6

 Hepatosight®培养基制作.....6

 细胞培养皿准备.....7

4. Hepatosight®复苏与铺板8

 细胞复苏.....8

 细胞铺板.....9

5. Hepatosight®维持10

1. 产品信息

拆箱&管理

- ✚ 收到 Hepatosight® 产品后，请检查内容物是否均处于准确的冷冻状态。如果不是，请立即联系我们。
- ✚ 将产品迅速转移至适当的存储环境。
- ✚ 请检查产品目录号、批号和有效期。其中基础培养基的有效期最短 (**有效期在标签上**)，因此请合理安排实验计划。
- ✚ Hepatosight® 应由符合良好实验室规范和适用 MSDS (产品安全技术说明书) 的技术合格人员进行操作。建议遵循产品说明书以获得最佳结果。
- ✚ Hepatosight® 仅供研究使用，不适用于动物和人类诊断或治疗用途。

产品&描述

产品	货号	运输温度
Hepatosight® hiPSC-人源肝细胞 (冻存管) > 5 × 10 ⁶ 细胞 > 10 × 10 ⁶ 细胞	H-001 H-002	液氮
Hepatosight® 维持基础培养基 70 ml 120 ml	HM-001 HM-002	4°C
Hepatosight® 维持补充剂 0.7 ml (100X) 1.2 ml (100X)	HS-001 HS-002	-20°C
Hepatosight® 产品说明书¹		
Certificate of Analysis (CoA)		
MSDS²		

¹ 可在官网 www.nuoxinte.com 下载。

² 运输货件中附带。

如果您的货件中缺少上述任何产品，请联系我们，售后团队将提供必要的帮助。

Hepatosight®, hiPSC-肝细胞

细胞类型	人类诱导干细胞(hiPSC)衍生的肝细胞
细胞系来源	hiPSC 细胞系由正常成纤维细胞系重编程获得
质量控制	请参阅 CoA 了解批次特定信息。可根据要求提供病毒清除和 STR 分析数据。

Hepatosight® 培养基& 补充剂

- Hepatosight®基础培养基& 补充剂需要混合制成最终培养基, 且应在 1 个月内使用。请勿冷冻, 混合后分装储存, 以获得最佳效果。
- Hepatosight®维持培养基不含血清。有关培养基成分的更多信息, 请联系我们的技术团队。
- Hepatosight®维持培养基不含抗生素和抗真菌剂。只要保持适当的条件, 则不需要这些试剂。NUOXINTE 不建议使用此类试剂来获得实验结果, 但如果无法实现无菌细胞培养条件, 则应使用。

注意事项 & 用户须知



生物安全等级: 1

仅供研究使用，不适用于动物或人类诊断或治疗用途。本产品应始终采用适当的安全程序。详细说明请参考 MSDS。

用户须知 & 限制:

-  用户可以使用产品 (Hepatosight®) 进行内部研究，包括但不限于筛选潜在药物的功效和安全性，以及向第三方提供此类服务。未向用户授予任何其他权利，无论是明示、暗示、禁止反言或其他方式。特别是，购买本产品不包括也不附带任何使用、开发或以其他方式商业利用本产品的权利或许可，并且不向用户转让将本产品用于任何其他目的的权利。
-  用户同意按照所有适用的法律和法规使用本产品，但不得将本产品用于人的任何管理或应用。此外，用户同意不会将本产品用于人类临床治疗、诊断和预防，或兽医用途的动物中用于治疗、诊断和预防，包括但不限于临床应用、细胞治疗、移植和没有适当许可的再生医学。
-  如果用户将产品转让给第三方，应将本协议规定的用户须知&限制一起传达。

2. 介绍

诺欣特生物技术(苏州)有限公司致力于利用独有的分化方法提供人源诱导干细胞 (hiPCS) 衍生高质量肝细胞。Hepatosight® 是高纯度且功能活跃的细胞，确保研究人员获得可靠的数据。因此，NUOXINTE 希望 Hepatosight® 产品成为帮助推动组织特异性研究、毒性筛选、功效测试和药物发现方面的完美选择。

本产品说明书将帮助您以适当的密度接种 Hepatosight®，创建可检测白蛋白分泌、糖原生成和 CYP 活性等代谢相关各种应用的肝细胞层。请记住，最好的结果是通过用户的密切观察、关心和优化来获得的。

3. 细胞培养前准备

所需材料设备和耗材 (未提供)

物品	货号	公司
包被溶液 Matrigel	354234	Corning
细胞培养设备 液氮罐 37°C水浴锅 离心机 生物安全柜 (带紫外线) 细胞计数器 显微镜 移液器 细胞培养箱		
细胞培养耗材 离心管 细胞培养皿 移液器吸头 台盼蓝 (Trypan Blue) PBS 缓冲液		

Hepatosight® 维持培养基制作

1. 请提前 24 小时置于 4°C 下解冻。
2. 在生物安全柜中，将维持补充剂 (100X) 添加到基础培养基中制成相应的 Hepatosight® 维持培养基。补充剂添加后，可在 4°C 下保存长达 1 个月。请勿冷冻保存 Hepatosight® 维持培养基。
 为了避免由空气接触或反复加热/打开而导致培养基氧化，建议将培养基分装保存。

培养基种类	组成
Hepatosight® 维持培养基	Hepatosight® 维持基础培养基 Hepatosight® 维持补充剂

细胞培养皿准备

1. 请参考以下表格，计算所需包被溶液的体积。

细胞培养皿	6-well (9.6 cm ²)	12-well (3.8 cm ²)	24-well (1.9 cm ²)	48-well (1.0 cm ²)	96-well (0.33 cm ²)
包被体积 (1well)	1 ml	500 µl	300 µl	100 µl	50 µl

2. 请参考以下表格，将包被溶液稀释成工作浓度。稀释后请立即使用，可放 4°C 下储存一段时间，但建议尽快使用。

包被溶液种类	保存浓度	工作浓度
Matrigel	NA, 100X	1X (15µl/ml)

 Collagen I 也可以用作包被溶液，但请确保细胞铺板前把包被溶液吸干净。

- 将稀释好的包被溶液按规定体积添加到要使用的培养皿中。
- 轻轻旋转培养皿并检查包被溶液是否完全覆盖。
- 37°C 培养箱中孵育至少一小时。

 NUOXINTE 复苏细胞前平均孵育 4 小时

4. Hepatosight® 复苏与铺板

细胞复苏

Hepatosight®可以使用传统的细胞复苏方案。在这里我们介绍 NUOXINTE 的优化方案，可最大限度提高细胞复苏率。我们推荐每次解冻 1 管细胞，尽量减少细胞与 DMSO 的接触时间。

1. 室温 (25°C) 下放置 Hepatosight®维持培养基至少 30 分钟。
2. 吸取 8 ml 培养基分装到 15 ml 离心管中。
3. 从液氮罐中小心地取出 Hepatosight®。
4. 将 Hepatosight®冻存管的 2/3 浸入到 37°C 水浴锅中。避免瓶口与水接触，并检查细胞解冻情况。待解冻到 80% (约 3 分钟) 的时候将冻存管取出，用 70% 酒精擦拭并放入生物安全柜中。理想情况下，冻存管应该在开始第 5 步骤时完全解冻。
5. 打开冻存管，使用 1 ml 移液器将细胞 (约 1 ml) 逐滴转移至分装好的 8 ml Hepatosight®维持培养基中，并轻轻旋转离心管。

 逐滴转移并旋转离心管的目的是最大限度地减少渗透冲击并确保细胞与液体充分融合，从而确保细胞活力。逐滴转移时需将移液器缓慢放到培养基上方约 1 厘米，一滴一滴慢慢滴入。

6. 额外加入 1 ml Hepatosight®维持培养基到冻存管中，将剩余细胞一并转移至步骤 5 中的离心管中。
7. 将离心管在室温下以 180 x g 离心 3 分钟。
8. 小心地吸走上清液。
9. 加入 1 ml 维持培养基轻轻吹打，重悬细胞。利用细胞计数器和台盼蓝检查细胞的浓度。立即进入下一步骤-细胞铺板。

 避免对细胞进行重复吹打降低其活力。可通过轻轻吹打 3~4 次实现细胞重悬。

细胞铺板

NUOXINTE 建议以约 250,000 个细胞/cm² 的密度接种 Hepatosight®。可根据用户自己需求的优化，NUOXINTE 也将尽力提供更多的帮助。

1. 不同培养皿所需的细胞数量如下表格所示，请根据活细胞的数量计算每个孔要添加的细胞重悬液体积。

细胞培养皿	6-well (9.6 cm ²)	12-well (3.8 cm ²)	24-well (1.9 cm ²)	48-well (1.0 cm ²)	96-well (0.33 cm ²)
铺板体积/well	2 ml	1 ml	500 µl	300 µl	200 µl
细胞数/well	2,500,000	900,000	450,000	250,000	100,000

✚ Ex) 活细胞数为 10×10⁶个细胞/ml

如果是 6 孔板，则 $2.50 \times 1000 \div 10 = 250$ (µl)，因此每个孔添加 250 µl 细胞重悬液。

✚ 不同供应商之间培养皿的面积 (cm²) 有所不同，请咨询您的供应商以获取准确数据。

2. 首先，除去培养皿中的包被溶液，尽量避免培养皿变干。
3. 加入相应体积的 Hepatosight® 维持培养基到培养皿中 (铺板体积减去细胞重悬液体积)。
4. 按照计算好的体积，将细胞重悬液加入至培养基中。
5. 避免时间过长导致离心管中细胞重悬液沉淀，导致铺板不均匀。可轻轻摇晃离心管使细胞维持悬浮。
6. 将培养皿转移到 37°C 培养箱中，垂直左右摇动 (各 5 次)，使细胞均匀分布在每个孔中。
7. 第二天，用 Hepatosight® 维持培养基进行第一次换液 (Hepatosight® 维持步骤)。

5. Hepatosight®维持

细胞铺板 24 小时后第一次换液，此后细胞每 48 小时换一次液。当对细胞进行电生理检测时，我们建议在实验当天早上进行换液，确保细胞有足够的营养维持高药物反应性。

1. 将适当的 Hepatosight®维持培养基在 37°C 水浴或室温下加热至少 20 分钟。
2. 在生物安全柜中进行细胞换液。移液器吸头贴在培养皿壁上，吸走液体后，轻轻加入 Hepatosight®维持培养基，避免对细胞造成任何损伤。
 - ✚ 细胞铺板 24 小时后进行全量换液。吸走液体时不要倾斜培养皿，尽量放平，可存留少量液体，避免细胞与空气接触发生脱落，影响长期培养。随后，轻轻贴壁加入适量 Hepatosight®维持培养基。
 - ✚ 第一次全量换液后，每隔 48 小时进行半量换液。
 - ✚ 半量换液示例：每个孔 1 ml 培养基，取出 400 μ l 并添加 500 μ l。
 - ✚ 进行半量换液时，也要保持培养皿放平，避免细胞向一旁倾斜发生聚集。
3. 将培养皿放回培养箱中。
4. 每隔 48 小时重复步骤 1-3。

我们建议从第 7 天起利用 Hepatosight®进行检测实验。超过 11 天后可能导致细胞形态或功能丧失。建议维持细胞时请仔细观察状态，以获得最佳的结果。