

细胞介绍

该细胞来自于一位朝鲜族 59 岁女性胃腺癌患者的腹水转移灶建系的癌细胞系。

细胞特性

- 1) 来源: 59 岁 女性 胃
- 2) 形态: 圆形, 单个和聚团 悬浮生长
- 3) 含量: $>1\times10^6$ 细胞数
- 4) 规格: T25 瓶或者 1mL 冻存管包装
- 5) 用途: 仅供科研使用。

悬浮细胞到货处理:

该细胞为悬浮细胞, 我们发货是用的一个离心管装的, 不是 T25 瓶装, 方便老师操作。传代时使用【半换液法】对细胞状态有利, 因此我库建议您使用【半换液法】进行传代。

您在收到细胞后, 不需要通过离心的方式收集细胞, 可以将离心管上下混匀数次, 后移入 2 个 T25 培养瓶中继续培养即可。【即 2 管离心管分到 4 个 T25 瓶中】

静置后可以观察下细胞形态, 拍照。

一. 培养基及培养冻存条件准备:

- 1) 准备 RPMI 1640 培养基; 特级胎牛血清, 10%; 双抗, 1%。
- 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%。分瓶比例: 1:2, 换液频率: 每周 2 到 3 次
- 3) 冻存液: 90% 血清, 10%DMSO, 现用现配。

二. 细胞处理:

1) 冻存细胞的复苏:

将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻, 加入到含 4-6mL 完全培养基的离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 3-5min, 弃去上清液, 完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含 6-8ml 完全培养基的培养瓶(或皿)中 37°C 培养过夜。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2) 细胞传代: 如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养。

对于悬浮细胞, 传代可参考以下方法:

悬浮状态下生长的细胞, 可以通过向培养瓶中添加完全培养基来维持细胞的生长状态, 一般情况下细胞密度维持在 $1\times10^5\sim1\times10^6$ 个/mL (不同细胞对密度要求不同,) 可以维持细胞的正常生长。如需分瓶可以将细胞悬液收集到离心管中 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 的比例分到新 T25 瓶中，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 **1:2~1:4** 的比例进行。

3) 细胞冻存: 收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例：

1. 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml.

2. 1000rpm 离心 3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每 1ml 冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml 分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息。

3. 将要冻存的细胞置于程序降温盒中，-80 度冰箱中过夜，之后转入液氮容器中储存。同时记录好冻存管在液氮容器中的位置以便后续查阅和使用。

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，并请注意防护，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。